

Л.О.Барсегянц, Б.Д.Левченков

**СУДЕБНО-МЕДИЦИНСКАЯ
ЭКСПЕРТИЗА
ВЫДЕЛЕНИЙ
ОРГАНИЗМА**

Барсегянц Л.О.

• Медицина • 1978

Л.О.Барсегянц, Б.Д.Левченков

**СУДЕБНО-МЕДИЦИНСКАЯ
ЭКСПЕРТИЗА
ВЫДЕЛЕНИЙ
ОРГАНИЗМА**



МОСКВА · «МЕДИЦИНА» ·

1978

СОДЕРЖАНИЕ

Введение	3
I. Обнаружение спермы	6
Морфологический способ	10
Макролюминесцентный способ	18
Микрокристаллические и микрохимиче- ские способы	19
Серологический способ	22
Хроматографические способы	24
Электрофоретический способ	26
Ферментные способы	28
Фитагглютинационный способ	36
II. Обнаружение слюны	50
Обнаружение слюны на посуде, исполь- зованной для питья	61
Обнаружение слюны на остатках пищи	62
Определение наличия слюны на папиро- сах и «самокрутках»	62
III. Исследование мочи	65
Установление наличия мочи в сыпучих и жидких объектах	71
Определение беременности по следам мочи	72
IV. Обнаружение пота и других жидкостей ор- ганизма	78
Обнаружение пота	78
Обнаружение секрета влагалища	86
Обнаружение молока и молозива	89
Обнаружение гноя	91
Обнаружение выделений из носа	91
Обнаружение прочих выделений	92
V. Дифференцирование выделений человече- ского организма путем эмиссионного спект- рального анализа	93
VI. Определение видовой принадлежности вы- делений	97
Сперма	98
Слюна	98
Пот	98
Моча	100
Кал	100
VII. Определение категории выделения и групповой принадлежности выделений	102
Связь выделения с группами кро- ви системы Льюиса	105
Ход исследования	107
Особенности исследования некоторых выделений	123
Л и т е р а т у р а	129

Судебно-медицинская экспертиза выделений организма.
Л. О. БАРСЕГЯНЦ, Б. Д. ЛЕВЧЕНКОВ. М., «Медицина», 1978,
144 с.

Работа представляет собой практическое пособие для судебно-медицинских экспертов, которое одновременно может служить справочником по частным вопросам судебной медицины для юристов и работников следствия. В книге содержится исторический обзор и приведены данные отечественной и зарубежной литературы о новейших методах исследования выделений, опыт экспертной работы в этой области как авторов, так и Научно-исследовательского института судебной медицины в целом.

Особое внимание обращено на методику исследования тех выделений, которые особенно часто служат объектом судебно-медицинской экспертизы (сперма, слюна, моча, пот). Подробно изложены методики исследования и дифференцирования указанных выделений, разработанные авторами за последние годы. Рекомендованы специальные способы исследования при экспертизе замкнутых, проглаженных следов, для обнаружения слюны на окурках, посуде, конвертах, а также женского молока на том или ином объекте и др.

Эти методики являются оригинальными, они успешно применяются авторами при некоторых экспертизах по делам об особо опасных преступлениях. В большинстве руководств и монографий по судебной медицине о них или не упоминается, или упоминается лишь вскользь.

Наряду с новыми способами в работе представлены и существующие апробированные методики.

ИБ № 372

ЛЮСИК ОГАНЕСОВНА БАРСЕГЯНЦ,
БОРИС ДМИТРИЕВИЧ ЛЕВЧЕНКОВ

Судебно-медицинская экспертиза выделений организма

Редактор М. В. Калинин
Художественный редактор О. Шанецкий. Корректор И. С. Парфенова
Техн. редактор Н. В. Лехачева. Обложка художника В. М. Вовнобой

Сдано в набор 25.11.77. Подписано к печати 15.03.78. Т-01269. Формат бумаги 84×108¹/₃₂. Бум. тип. № 2. Лит. гарн. Печать высокая. Усл.-печ. л. 7,56.
Уч.-изд. 8,54 л. Тираж 10 000 экз. Заказ 2898. МН-73. Цена 50 коп.

Издательство «Медицина». Москва, Петроверигский пер., 6/8.
Типография им. Смирнова Смоленского облуправления издательств, полиграфии и книжной торговли, г. Смоленск, пр. им. Ю. Гагарина, 2.

Б $\frac{52\ 200-194}{039(01)-78}$ 199—78

© Издательство «Медицина» · Москва · 1978.

ВВЕДЕНИЕ

Судебно-медицинская экспертиза вещественных доказательств имеет важное значение при расследовании преступлений. Особенно большую роль играет она при раскрытии тяжких преступлений против личности, таких, например, как убийство, изнасилование и др. Она помогает следствию воссоздать обстановку, в которой было совершено преступление, значительно сузить круг подозреваемых лиц, а в некоторых случаях неопровержимо изобличить виновного или, наоборот, исключить подозреваемого человека. Все это в полной мере относится и к исследованию следов выделений на вещественных доказательствах. Оно дает возможность, в частности, установить их видовую принадлежность, а также определить изосерологические свойства (групповые антигены), что позволяет в свою очередь говорить (правда, лишь в альтернативной форме) о возможной принадлежности следов выделений определенному человеку (подозреваемому, потерпевшему) или, наоборот, категорически исключить данное лицо. Так, например, следы спермы на теле, одежде и иных предметах, принадлежащих потерпевшей, которые совпадают по своим изосерологическим свойствам со спермой подозреваемого в изнасиловании, могут послужить серьезной, а подчас и неопровержимой уликой. И наоборот, несовпадение этих свойств может иногда решительно поколебать или полностью опровергнуть возникшие подозрения.

Судебно-медицинская, следственная и судебная практика знает немало случаев, когда результаты судебно-медицинского исследования следов выделений человеческого организма — спермы, слюны, мочи, пота и др. — на вещественных доказательствах, произведенного в связи с делами о тяжких преступлениях против личности, помогали избрать правильный путь расследования, найти истинного преступника и избежать тягчайшей судебной ошибки — осуждения невиновного.

Исследование следов выделений на вещественных доказательствах может представлять для правосудия интерес с двух точек зрения.

Во-первых, самый факт наличия того или иного выделения на вещественном доказательстве может указывать на характер преступления (например, нахождение семенных пятен на одежде или на постельном белье при подозрении на изнасилование, на развратные действия с несовершеннолетними и др.) и на обстановку, в которой оно было совершено. Будучи обнаружены, следы выделений подвергаются исследованию на предмет установления их групповой принадлежности, которая затем сопоставляется с групповой принадлежностью выделений как подозреваемого, так и потерпевшего (потерпевшей).

Во-вторых, наличие следов выделений может затруднять экспертизу и мешать правильно оценивать ее результаты. Это происходит в тех случаях, когда выделения одного лица смешаны с выделениями или кровью другого, причем эти люди обладают неодинаковыми антигенными характеристиками. Определение групповой принадлежности выделений при различии «наслаивающихся» друг на друга, взаимно маскирующих групповых свойств их становится затруднительным, а подчас и невозможным. Кроме того, такая ситуация при недостаточном опыте исследователя может привести к экспертной ошибке: неправильному определению групповой принадлежности выделений, что в подобных делах влечет за собой тяжелые последствия.

Число выделений организма значительно. Теоретически любое из них можно представить себе как объект судебно-медицинской экспертизы. Однако судебно-медицинская и следственная практика показывает, что чаще всего эксперту приходится отыскивать и дифференцировать следующие выделения: сперму, слюну, мочу, пот, выделения из влагалища, из носа, женское молоко, а также дифференцировать их от следов крови и гноя. Другие биологические жидкости сравнительно редко служат объектом судебно-медицинской экспертизы.

Следует учесть, что многие работы, посвященные изучению выделений организма, выполнялись физиологами, клиницистами и биохимиками, т. е. исследователями, весьма далекими от судебной медицины, которые ставили перед собой совершенно иные цели. Между тем

судебно-медицинское исследование выделений имеет свою специфику и свои трудности.

Исследователи (химики, биохимики, клиницисты и физиологи), предлагая методики обнаружения того или иного ингредиента выделений, работали в условиях так называемого чистого опыта. Они исследовали выделения в свежем, жидком виде, при отсутствии загрязнений, они точно знали объект исследования, знали, какому человеку или какому животному принадлежит исследуемая биологическая жидкость, располагали всеми необходимыми сведениями о доноре.

В совершенно ином положении находится судебно-медицинский эксперт, производящий исследование выделений на вещественных доказательствах. Ему неизвестно, какие результаты будут получены при проведении тех или иных исследований, поскольку он почти всегда имеет дело с вещественными доказательствами, следы на которых уже высохли, не знает заранее, какой именно биологический объект он исследует, здоровому или больному человеку принадлежит объект, когда образовались следы на вещественном доказательстве, в каких условиях оно хранилось. Очень часто в исследуемом объекте смешаны разные выделения (нередко от разных людей), имеется примесь крови, случайных загрязнений и др.

Помимо биологических свойств, характерных для того или иного выделения (индивидуальные особенности человека, которому оно принадлежит), большое значение имеют различные внешние воздействия, в том числе замывание, проглаживание, гниение и др. Все это создает трудности для проведения судебно-медицинской экспертизы. Однако судебно-медицинская наука сумела адаптировать их применительно к своим задачам. Это позволяет в ряде случаев преодолевать возникающие затруднения при исследовании экспертного материала.

Для судебно-медицинского эксперта чрезвычайно важно овладеть надежными способами, которые позволяют устанавливать на вещественных доказательствах наличие, видовую и групповую принадлежность выделений человеческого организма в чистом виде и в смеси с кровью и друг с другом, а также дифференцировать одно выделение от другого.

ОБНАРУЖЕНИЕ СПЕРМЫ

Из всех выделений человеческого организма сперма чаще всего служит объектом судебно-медицинской экспертизы. Это можно объяснить, во-первых, относительной частотой уголовных и гражданских дел, в связи с которыми возникает необходимость производить подобные экспертизы, а во-вторых, тем, что еще примерно с середины прошлого столетия эксперты располагают хорошо разработанными, достоверными способами установления следов спермы как в жидком виде, так и в виде следов на вещественных доказательствах.

Установить наличие спермы чаще всего бывает необходимым при проведении экспертизы по уголовным делам, возбуждаемым в связи с совершением половых преступлений. Обнаружение спермы на вещественных доказательствах в таких случаях может сыграть решающую роль.

В качестве примера можно привести следующее наблюдение.

В комнате, принадлежащей гр-ке Ф., были обнаружены трупы ее детей — девочки 8 лет и мальчика 3 лет. Труп девочки лежал на столе на спине, нижняя часть туловища была обнажена, бедра разведены. Труп мальчика лежал на кровати. Смерть детей наступила от разрушения черепа тупым предметом. В убийстве были заподозрены мать детей, гр-ка Ф., и ее сожитель, гр-н Н., — люди с весьма неприглядным моральным обликом. Имелись основания полагать, что дети в какой-то мере мешали им вести разгульный образ жизни, и поэтому гр-ка Ф. и гр-н Н. решили от них избавиться, инсценировав убийство с изнасилованием. Прямых улик не было, но косвенным подтверждением подобной версии служило то, что на одежде подозреваемых были обнаружены незначительные следы крови человека, относящегося к группе 0(I), т. е. той, которая имела у обоих детей [правда, и гр-ка Ф., и гр-н Н. тоже относились к группе 0(I)], а также показания ряда свидетелей, заявивших, что мать не проявляла о девочке никакой заботы, была ее, часто заставляла выполнять тяжелую работу. Гр-ка Ф. и гр-н Н. отрицали причастность к убийству, однако убедительных доказательств в свою защиту привести не смогли. В расследовании этого сложного дела решающую роль сыграло исследование веществен-

ных доказательств. На платье девочки и на столовой клеенке, на которой лежал ее труп, среди обильных следов крови были обнаружены пятна спермы. Эта сперма принадлежала мужчине, относящемуся к группе АВ(IV), в то время как подозреваемый Н. имел группу О(I). Такой результат опровергал версию об инсценировке и исключал гр-на Н. как лицо, совершившее изнасилование. Поколебались и подозрения против гр-ки Ф. Следствие направилось по новому пути. Стало ясно, что убийство совершил мужчина на сексуальной почве. Тот факт, что был убит мальчик, говорил о том, что убийца устранил его как свидетеля, боясь опознания. Отсюда следовало, что убийца был знаком детям. Круг поисков значительно сузился. Был заподозрен сосед гр-ки Ф., имевший доступ в ее комнату. Исследования показали, что подозреваемый относится к группе АВ (IV). На его одежде были найдены следы спермы и кровь, принадлежащая к той же группе О(I), что и кровь убитых детей. Под давлением ряда улик он сознался и показал, что убил девочку после того, как совершил с ней развратные действия. В это время спавший мальчик проснулся и преступник, боясь разоблачения, убил также и его. Таким образом, исследование выделений на вещественных доказательствах помогло найти и изобличить убийцу и отвести тяжкие обвинения от гр-ки Ф. и гр-на Н.

В сфере гражданского судопроизводства судебно-медицинская экспертиза спермы (как правило, получаемой в жидком виде) назначается по делам о спорном отцовстве, а также при бракоразводных процессах. От эксперта требуется на основании исследования наличия и подвижности сперматозоидов дать заключение о способности или неспособности данного лица к оплодотворению. Вопрос об обнаружении спермы при этом не возникает, кроме тех редких случаев, когда имеется подозрение, что свидетельствуемый, желая симулировать азооспермию, умышленно представил эксперту вместо спермы какое-то другое выделение, например слюну или мокроту. В связи с этим данный вид экспертизы спермы в настоящей работе рассматриваться не будет.

Сперма представляет продукт деятельности разных желез. К ним в первую очередь относятся яички, вырабатывающие сперматозоиды, которые накапливаются в семенных пузырьках; предстательная железа, продуцирующая простатический сок, который обуславливает подвижность сперматозоидов и является основной жидкой частью спермы, и, наконец, к семенной жидкости примешивается секрет слизистой оболочки семенных пузырьков и небольших, расположенных в уретре, желез Литтре и Купера. Относительная плотность спермы 1,021—1,040, реакция нейтральная или слабощелочная (примерно рН 6—7,8). Объем эякулята (в среднем око-

ло 5 мл) подвержен в норме колебаниям в широких пределах.

Судебно-медицинской экспертизе чаще приходится иметь дело с пятнами спермы, оставленными на одежде и на постельном белье. Обычно они интенсивнее выражены в своей периферической части по сравнению с центральной.

При микроскопическом исследовании сперма представляет собой жидкую среду — так называемую семенную плазму, в которой взвешены морфологические элементы. Последние состоят главным образом из сперматозоидов — специфической составной части семенной жидкости. Число их в норме составляет 50—150 млн/мл, продольный размер 52—62 мкм. Довольно постоянным, хотя и не вполне характерным, компонентом являются «простатические тельца», несколько напоминающие крахмальные зерна. В сперме могут присутствовать в различных количествах неспецифические элементы — эпителиальные клетки, лецитиновые зерна, кристаллы (холин), иногда микробы.

Морфологический состав спермы может колебаться в широких пределах под влиянием различных факторов. У мальчиков сперматозоиды в семенной жидкости обнаруживаются к началу полового созревания, т. е. приблизительно к 13½—14½ годам. У лиц преклонного возраста (примерно к 75 годам) число их резко уменьшается или они полностью исчезают. Однако известны случаи, когда сперматогенез продолжается у человека и после 75 лет.

Под влиянием различных факторов морфологический состав спермы может существенно изменяться. Так, при преждевременном половом созревании развивается как следствие эндокринной патологии ранний сперматогенез. Однако эндокринные расстройства могут привести к тому, что сперматогенез или совсем не разовьется, или угаснет раньше времени. К таким же последствиям могут привести и другие заболевания, например двусторонний туберкулезный орхит. Длительное рентгеновское и радиоактивное облучение сначала стимулирует, а потом резко подавляет сперматогенез. Двусторонние облитерирующие воспалительные процессы в семявыводящих путях (эпидидимиты, фуникулиты) сами по себе не влияют на сперматогенез, но приводят к прекращению поступления сперматозоидов в эякулят. И, наконец, отсут-

ствие сперматозоидов в семенной жидкости может быть обусловлено врожденным уродством (например, крипторхизм) или травмой.

При различных заболеваниях в сперме изменяется и состав других морфологических элементов (лейкоциты, эпителиальные клетки и др.).

Химический состав спермы сложен. По данным разных авторов, в нее входит 82—90% воды, сухой остаток составляет около 82 г/л. В сперме содержатся фосфаты, сульфаты, хлораты, лактаты и цитраты калия, натрия и кальция, ртуть, железо. Особенность спермы, отличающая ее от других выделений,— наличие цинка. Из числа белковых веществ в ней содержатся альбумины, глобулины, нуклеопротейды, нуклеин, муцин, гликопротеиды. В сперме присутствуют почти все свойственные человеку аминокислоты. Некоторые из них постоянно содержатся в сперме, другие появляются спустя различные промежутки времени при стоянии спермы вследствие гидролиза белков. В частности, в ней обнаружены аланин, глицин, валин, лейцин, изолейцин, тирозин, фенилаланин, цистин, аспарагиновая и глутаминовая кислоты. Отмечено относительно высокое содержание серина (хотя и значительно меньшее, чем в поте), треонина и пролина, в сумме составляющее около 50% от общего содержания всех аминокислот.

Еще в 1890 г. А. В. Пель описал в сперме алифатический полиамин, который он назвал спермином. Из числа прочих аминов следует упомянуть холин, который послужил основой для реакции, предложенной Флорансом на предмет обнаружения спермы в пятнах (см. ниже «Микрокристаллические реакции»). В сперме содержатся липиды, в частности холестерин и лецитин. Из сахаров обнаружены глюкоза и фруктоза. Последняя содержится в количестве 2,24 г/л (Lindner, 1967). Весьма широко представлены ферменты: щелочная, нейтральная и кислая фосфатазы, фосфоглюкомутаза, гиалуронидаза, присутствуют также и диастатические ферменты. Последние могут изменять состав спермы при стоянии, так как они разрушают фруктозу и цитраты. Плазма семенной жидкости и экстракт предстательной железы содержат также протеолитические ферменты: химотрипсин, трипсин, дипептидазу, трипептидазу и аминоксипептидазу. Эти ферменты также могут разрушать при стоянии спермы ее белковые фракции с образованием

аминокислот. Кроме того, в сперме содержатся различные гормоны как в исходных, так и в переходных формах.

В плазме семенной жидкости был обнаружен специфический антигенный компонент, который назван γ -семинопротеином (Koynagi et al., 1971—1975). Состав этого компонента сложный: в него входят белки, сахара, амины, сиаловая кислота, углеводороды, аминокислоты.

В норме химический состав спермы довольно постоянен, однако он может существенно изменяться под влиянием некоторых местных и общих заболеваний, в частности андрогенных расстройств и нарушений минерального обмена. Отмечено, что при расстройствах продукции половых гормонов нарушаются активность кислой фосфатазы и содержание фруктозы.

Судебно-медицинская экспертиза спермы — установление ее наличия и групповой принадлежности, — как правило, назначается по делам, связанным с изнасилованием, развратными действиями, педерастией и т. д. Для обнаружения спермы применяются различные методы.

МОРФОЛОГИЧЕСКИЙ СПОСОБ

Этот вид исследования семенных пятен давно известен судебным медикам (Devergie, 1839, и др.). Он всегда импонировал абсолютной специфичностью, будучи основан на обнаружении сперматозоидов, т. е. таких элементов, которые присущи только сперме и имеют весьма характерный вид, позволяющий уверенно отличать их от других морфологических элементов. Следует иметь в виду, что возможны отклонения от нормальной структуры головки, шейки и хвоста сперматозоидов. Причины могут быть двоякими: или мы имеем дело со сперматозоидами, которые первоначально имели обычный вид, но подверглись в организме мужчины изменениям вследствие, например, задержки в семявыводящих путях, или же это «тератоспермии», с самого начала имевшие атипичную структуру (их появление обусловлено генетическими причинами).

Обнаружить сперматозоиды можно с помощью извлечения их из следов на вещественных доказательствах, исследованием на месте (окраска непосредственно в самих следах), получением отпечатков и др. Наи-

более старым является метод извлечения. Первым этапом его является размачивание подозрительных следов.

Первоначально исследователи рекомендовали пользоваться для этой цели водой (И. Г. Шюрмайер, 1851). Однако вода может вызывать осмотическое разрушение сперматозоидов. Mattenzweig (1878) и др. размачивали семенные пятна раствором аммиака, но Т. Л. Каспер (1878) указал, что аммиак разрушает хвостики сперматозоидов. Он рекомендовал для этой цели смесь растворов йода и йодида калия. В. Никулин (1884) применил жидкость Мюллера, а В. Варшавский (1889) добавлял к ней слабый раствор аммиака. Все эти способы представляют в основном лишь исторический интерес.

В настоящее время практика показывает, что пятна лучше всего размачивать в 25% растворе аммиака (М. А. Бронникова, 1963; А. К. Туманов и др., 1975). А. К. Серопян (1957) предлагает экстрагировать сперматозоиды 10% раствором аммиака в течение 8—12 ч. Наряду с этим применяют и изотонический раствор.

Многие авторы предлагают различные рецепты реагентов, которые, по их мнению, ускоряют и облегчают процесс мацерации, не нарушая целостность сперматозоидов. К числу таких средств относятся: раствор яичного белка (Forgade, 1946), смесь панкреатина с глицерином и солевым раствором (В. И. Матвеев, 1964) и др.

Kivela (1964), Marzinkowski и соавторы (1966) для того, чтобы облегчить процесс экстрагирования, использовали вибратор, применяемый для стирки белья, а Glückmann (1968) — ультразвук. Следует отметить, что все эти способы, как правило, не дают особых преимуществ по сравнению с 25% раствором аммиака или солевым раствором, кроме того, многие из них связаны с усложнением процесса экстрагирования. Выбор того или иного метода обусловлен в основном личной склонностью автора. Об этом свидетельствуют, в частности, Fiorentini и соавторы (1968), которые пытались применять для размачивания семенных пятен различные жидкости, в том числе плазму крови и смесь водных растворов поваренной соли, хлорида калия и лимонной кислоты (рН 7,5), приближающуюся по своему составу к семенной жидкости. Авторы считают, что наилучшие результаты из числа испытанных ими экстрагентов все же дает изотонический раствор: сперматозоиды, деформированные в результате длительного высушивания, вос-

становливали свою первоначальную форму в пятнах, имеющих давность происхождения 6 лет.

Так или иначе из подозрительного пятна делают вырезку или берут отдельные волокна ткани, смачивают экстрагентом и исследуют вытяжку под микроскопом.

Как указывалось, при исследовании вещественных доказательств почти всегда приходится иметь дело с высохшими следами спермы. Правда, Janssen и соавторы (1967) приводят случай, когда им пришлось исследовать на белье потерпевшей влажное пятно, в котором после добавления к нему изотонического раствора удалось обнаружить подвижные сперматозоиды. Экспериментальным путем они доказали, что путем добавления изотонического раствора к влажному или подсыхающему пятну на материи иногда удается восстановить подвижность сперматозоидов даже через 50 мин после эякуляции. Однако подобные случаи экспертизы представляют собой весьма редкое исключение.

Вторым этапом исследования является окраска сперматозоидов, поскольку в нативном виде их довольно трудно рассмотреть. Окраску производят или в жидкости, полученной при отжимании ткани, вырезанной из места расположения пятна, или в мазках, приготовленных на предметном стекле, или непосредственно на самом предмете-носителе.

Третий этап — отыскание сперматозоидов. Его осуществляют при увеличении микроскопа $\times 40-60$, со значительным диафрагмированием, тщательно просматривая весь препарат, на что нередко уходит очень много времени. Доказательством семенного происхождения пятна может служить только обнаружение хотя бы одного целого сперматозоида или сперматозоида, представленного головкой, шейкой и частью хвоста.

Следует иметь в виду, что сперматозоиды могут быть не обнаружены, так как в эякуляте могут отсутствовать семенные нити (азооспермия), а также в результате технических погрешностей (например, недостаточная мацерация пятна или разрушение сперматозоидов в пятне при неблагоприятных условиях хранения). Кроме того, при определенной иммунологической ситуации сперматозоиды в жидкой среде фагоцитируются лейкоцитами (И. Г. Питконен, 1960; Р. П. Попиванов и др., 1966).

Синегнойная палочка полностью разрушает сперматозоиды в пятнах, хранившихся во влажной среде в течение 2—3 сут (И. А. Полищук и др., 1964). При хранении пятен в сухом виде разрушение сперматозоидов, как правило, не наступает. А. З. Павлова (1974) установила, что наиболее часто встречающиеся во влагалище микроорганизмы — различные штаммы стафилококков, стрептококков, грибов типа *Candida* — способны в течение 18 сут (срок наблюдения) снижать количество сперматозоидов в жидкой сперме с 27 до 5—10 в поле зрения.

Для окраски сперматозоидов практически пригоден весь обычный ассортимент основных, нейтральных и кислых красителей, и выбор их зависит от склонности автора. Здесь приводятся лишь некоторые наиболее употребительные или те, которые разработаны применительно к отдельным частным случаям экспертизы (например, для обнаружения сперматозоидов на фоне окрашенной ткани-носителя).

Окраску сперматозоидов производят обычно путем добавления раствора красителя к вытяжке, полученной из пятна, либо к вырезке из пятна на часовом или предметном стекле. Применяют метиленовый зеленый, аммиачный раствор эритрозина (способ Корен-Стокиса), генциановый фиолетовый, метиленовый синий, метиловый зеленый + пиронин (краска Паппенгейма), йод-эозин в едком кали (П. С. Семеновский, 1910).

Joster (1911) протравливал пятно спермы резорцином с пикриновой кислотой и йодидом калия, после чего обрабатывал щавелевой кислотой с танином. Сперматозоиды при этом окрашивались в черный цвет, а ткань-носитель обесцвечивалась.

Boldrini (1928) окрашивал сперматозоиды карбофуксином, обесцвечивал и докрашивал метиленовым синим. Головки при этом окрашиваются в красно-фиолетовый цвет, а хвостики — в голубой. По аналогичному принципу построен метод Баэки. Fourcade (1947) рекомендует применять гемалаун с докрашиванием эозином. Casaretta (1954) предложил окраску, модифицированную в дальнейшем Fiori. Красителями служат анилиновый синий и эозин. Метод сложен, он требует большого навыка, особенно при обесцвечивании 95° спиртом.

Knight (1963) обрабатывал семенные пятна по способу Фельгена, применяемому для гидролиза ДНК, и ре-

активом Шиффа с докрашиванием спиртовым реактивом метилового зеленого. При этом красные головки сперматозоидов хорошо контрастируют с общим зеленоватым фоном препарата. На том же принципе основан способ Baima-Bollone (1967). Автор отмечает, что в ходе гидролиза значительно обесцвечивается предмет-носитель. Однако способ пригоден лишь для свежих пятен. В дальнейшем (1968) этот же автор с успехом применял данный способ при отыскивании сперматозоидов на древесине. Окраску ДНК в сперматозоидах по Фёлгену применил также Ю. П. Павлов (1964), что позволило ему уверенно дифференцировать семенные нити от других морфологических элементов, свойственных, например, влагалищным выделениям или моче. Для того чтобы обесцветить ткани-носители, не нарушая структуру и тинкториальные свойства сперматозоидов, Gatti (1963) пользовался препаратом «неовадин», применяемым в текстильной промышленности. Способ пригоден даже для пятен давностью происхождения 30 лет.

Таким образом, можно сказать, что большинство предложенных способов окраски сперматозоидов в основном отвечает своему назначению. Выбор их в значительной мере определяется личной склонностью исследователя, его предпочтительным восприятием той или иной комбинации цветов, наличием под рукой определенных реактивов и др.

«Снимать» сперматозоиды с предмета-носителя можно, прижимая к увлажненному, а иногда к сухому пятну на некоторое время какой-либо предмет с липкой поверхностью. Затем, отделив его от пятна, исследуют приставшие к липкой поверхности сперматозоиды или непосредственно на ней самой, или в отпечатке, полученном с нее. Boldrini (1928) пользовался для этой цели обычной фотопленкой, De Bernardi (1959) — липким пластырем, с которого потом делал отпечаток на стекле. Д. Д. Джалалов (1961) упростил эту методику, используя вместо липкого пластыря рентгеновскую пленку и отыскивая сперматозоиды непосредственно на ней.

Предлагаются и другие способы выявления сперматозоидов. Так, Berg (1953) рекомендовал обрабатывать пятна по принципу гистологических препаратов — фиксировать, заключать в парафин, готовить срезы с помощью микротомы. Диагностические возможности такой методики не могут не вызвать сомнения, поскольку

в срез будут попадать лишь ограниченные участки объекта. Bernheim (1966) обнаружил сперматозоиды с помощью электронной микроскопии вытяжек, полученных из пятен. Контуры семенных нитей выявлялись очень четко. Для обнаружения сперматозоидов используют фазово-контрастную микроскопию (Bohne et al., 1956; Muller et al., 1966; Schoysmann et al., 1966). С помощью этого метода исследуют центрифугат из вытяжки семенных пятен.

Ю. М. Кубицкий и соавторы (1957), а также Ю. Г. Твалчрелидзе (1966) предложили выявлять сперматозоиды фазово-контрастной и фазово-темнопольной микроскопией. И. А. Опарин и соавторы (1961) разработали способ обнаружения сперматозоидов в отраженном свете непосредственно на предмете-носителе путем эпимикроскопии. Сперматозоиды хорошо контурируются. Появление овальных бликов, расположенных симметрично по обеим сторонам головки, по данным Д. Д. Джалалова (1961), обусловлено «приклеиванием» головки сперматозоидов к покровному стеклу. «Приклеивание» происходит не всегда, а поэтому сперматозоиды могут не обнаружиться в объекте. Ядро сперматозоида при эпимикроскопии плохо различимо, что затрудняет распознавание семенных нитей.

За последнее время применяется также способ обнаружения сперматозоидов при помощи микролюминесценции. Сами сперматозоиды не обладают способностью люминесцировать, поэтому препараты со спермой предварительно обрабатывают флюорохромами, т. е. веществами, люминесцирующими при воздействии ультрафиолетовых или синих лучей.

В 1944 г. А. А. Шурубуря предложил исследовать сперму с помощью люминесцентной микроскопии, используя люминофор-акридин оранжевый. Живые сперматозоиды флюоресцировали ярко-зеленым цветом, неживые — красным. В. Н. Виноградов и соавторы (1956) разработали способ однородной люминесценции с использованием аурамина 00 или берберин-сульфата. Ю. М. Кубицкий и соавторы (1957) заменили дефицитный берберин-сульфат риванолом.

Х. М. Тахо-Годи (1958) усовершенствовал вышеописанный метод и предложил пользоваться дифференциальной люминесценцией, нанося на объект сразу два флюорохрома: аурамин 00 и акридиновый оранжевый.

Головки сперматозоидов при этом люминесцируют темно-розовым, а хвостики — зеленым или желто-зеленым светом. Люминесцентная микроскопия при малом увеличении дает возможность изучать большую площадь препарата, а последующая фазово-контрастная микроскопия позволяет четко дифференцировать сперматозоиды от других элементов и примесей.

De Bernardi (1963) использовал в качестве флюорохромов аурамин или тиофлавин-S, микроскопируя предмет-носитель при проходящем или падающем ультрафиолетовом освещении. Автор сам отмечает недостаток метода — нерезкость контуров сперматозоидов, особенно в падающем свете.

Однако большинство вышеуказанных микролюминесцентных методов, несомненно, облегчает отыскание сперматозоидов, и поэтому их можно рекомендовать для применения в практической работе.

Выбор того или иного способа будет зависеть от личной склонности эксперта, наличия необходимых реактивов и т. д.

Eriksson и соавторы (1967) использовали флюороформные свойства тетрациклина и его способность связываться со сперматозоидами как *in vivo*, так и *in vitro*, не влияя на их подвижность и сохранность. Способ пригоден для исследования спермы в свежем и высушенном виде.

Seta и соавторы (1972) пытались обнаруживать сперматозоиды в пятнах посредством растрового микроскопа, однако изображение получалось недостаточно четким.

Для судебных медиков представляет интерес вопрос о сохраняемости сперматозоидов в половых путях у женщин при жизни и посмертно. Schoysmann и соавторы (1966) обнаруживали подвижные сперматозоиды в толще кристеллеровской пробки в канале шейки матки через 24 ч после сношения. Во влагалище сперматозоиды исчезали уже через 10 ч после совершения полового акта. Авторы приводят случай, когда подвижные сперматозоиды были обнаружены в кристеллеровской пробке в трупе, находившемся в течение 17 сут в проточной воде при 5°C. По данным Belonoschkin (1944), низкая температура способствует сохранению подвижности сперматозоидов в эксперименте *in vitro*, их удается «оживить» даже после замораживания при $-169,5^{\circ}\text{C}$,

после воздействия температуры, близкой к абсолютно-му нулю.

Весьма интересные данные получил Rupp (1966), обследовавший 64 женщины спустя разные сроки после изнасилования. В период через 1—6 ч после происшествия у всех, а через 7—8 ч у некоторых найдены подвижные сперматозоиды. После этого срока находили лишь неподвижные сперматозоиды, а после 14 ч их вообще не обнаруживали. Приведено также 14 случаев, когда потерпевших обследовали через 3—34 ч после происшествия, причем сперматозоиды у них не были найдены. Правда, женщины за это время успевали тщательно вымыться или проделать влагалищное спринцевание. Менструация способствует сохранению подвижности сперматозоидов. Pollak (1943) обследовал через 6 ч после происшествия 4 женщин, изнасилованных во время менструации; у 3 найдены подвижные и у 1 — неподвижные сперматозоиды. Сперматозоиды сохраняются во влагалищном содержимом, помещенном в пробирку при комнатной температуре без консерванта, иногда в течение 26 сут, несмотря на обильный рост бактерий. При аналогичных условиях сохраняли влагалищное содержимое, взятое у женщины сразу после сношения. Подвижные сперматозоиды обнаруживались через 24 ч, а неподвижные — через 179 сут. Неподвижные сперматозоиды удалось наблюдать и в чистой сперме, сохранившейся в течение 574 сут. Имеется также наблюдение, когда сперма с единичными неподвижными сперматозоидами найдена во влагалище набальзамированного трупа через 30 ч.

Eunprabhanth (1974) на большом материале установил, что сперматозоиды во влагалище сохраняются не более 7 суток после сношения.

Морфологический метод исследования спермы, несмотря на свои положительные стороны, имеет и серьезные недостатки. Он чрезвычайно кропотлив: поиски сперматозоидов на вещественном доказательстве нередко требуют многих часов, а иногда и дней. Отрицательный результат исследования никогда не дает эксперту полной гарантии отсутствия на вещественном доказательстве следов семенной жидкости. Кроме того, всегда остается неизвестным, обусловлен отрицательный результат отсутствием сперматозоидов или же он объясняется тем, что эксперт не смог их отыскать.

Все это заставило многих исследователей (отдавая в полной мере должное морфологическому методу как бесспорно доказательному) искать другие способы установления спермы для целей судебно-медицинской экспертизы.

МАКРОЛЮМИНЕСЦЕНТНЫЙ СПОСОБ

Люминесценцией называется способность некоторых веществ светиться в результате воздействия светового возбудителя (видимого или невидимого), причем длина вторичной (возбужденной) световой волны отличается от длины волны возбуждающего света. Различают два вида люминесценции: флюоресценцию и фосфоресценцию. Первая означает свечение, имеющее место только во время действия возбудителя: с прекращением облучения прекращается и свечение. Фосфоресценцией называют «послесвечение», т. е. способность вещества испускать световые лучи не только в момент облучения, но и в течение некоторого времени после прекращения действия светового возбудителя. Люминесцентный анализ в достаточной мере «капризен»: многое зависит от подбора источника облучения, установки светофильтров и др. Любое отклонение от требуемых стандартов может привести к ошибочным выводам.

В отличие от сперматозоидов жидкая часть спермы обладает способностью самостоятельно люминесцировать, даже находясь на высушенном виде. Поэтому при ультрафиолетовом облучении пятна спермы люминесцируют голубовато-белым светом. Источником облучения может служить ртутно-кварцевая лампа Вуда. Л. К. Могильная (1961) отмечает, что люминесценция наблюдается в пятнах даже после тщательного застирывания с мылом.

Л. Н. Горявин (1955) сравнивал характер флюоресценции разных выделений при ультрафиолетовом облучении и при освещении синим светом, рассматривая их при этом через желтый светофильтр. Пятна спермы флюоресцировали голубовато-зеленым светом вне зависимости от источника облучения. В пятнах, застиранных с мылом, флюоресценция отсутствовала.

Способ этот, однако, неспецифичен, поскольку такое же свечение дают многие вещества, в том числе жидкости растительного и животного происхождения, в частности сок растений, слюна, моча, молоко и др.

В судебно-медицинской практике макролюминесцентный метод используют в качестве предварительной ориентирующей пробы, облегчающей отыскание подозрительных на присутствие спермы следов, которые подлежат затем обязательному морфологическому исследованию. Однако и тут люминесцентная проба ненадежна, поскольку при облучении заведомо известных пятен семенной жидкости и жидкой спермы она иногда дает отрицательный результат. Таким образом, как при наличии, так и при отсутствии свечения люминесцентный способ нельзя расценивать как доказательный, и вещественное доказательство подлежит тщательному исследованию на предмет обнаружения сперматозоидов. В связи с этим ценность люминесценции даже как предварительной пробы весьма относительна.

МИКРОКРИСТАЛЛИЧЕСКИЕ И МИКРОХИМИЧЕСКИЕ СПОСОБЫ

Большая трудоемкость морфологического исследования и невозможность в случае отрицательного результата уверенно вынести экспертное суждение о наличии или отсутствии спермы постоянно заставляли исследователей искать более простые диагностические приемы. Неоднократно предпринимались попытки разработать надежную и специфичную химическую реакцию на семенную жидкость. Искали ее двумя путями: чисто эмпирически — на сперму как таковую, и целенаправленно — на какую-либо специфическую составную часть спермы.

В 1865 г. Böttcher обнаружил, что при высушивании спермы образуются бесцветные кристаллы клиноромбовидной формы, не растворяющиеся в дубильной кислоте. Однако в дальнейшем он убедился, что кристаллы образуются и в других жидкостях организма при их хранении. Он же обнаружил, что при обработке спермы раствором йода в йодиде калия появляются коричневые кристаллы ромбовидной формы, но не придавал им диагностического значения.

Однако в 1896 г. Florense обратил внимание на эти кристаллы и разработал специальный реактив и технику для их выявления. Эта методика дошла до наших дней. В оригинальной прописи реакция проводится следующим образом: кусочек материала с пятном помещают на предметное стекло, смачивают дистиллированной

водой. Через несколько минут объект удаляют, а рядом на то же стекло, не смешивая с вытяжкой, помещают каплю реактива (йода 2,54 г, йодида калия 1,65 г, воды 30 мл) и накрывают покровным стеклом. При этом вытяжка и реактив сливаются. Под микроскопом видно, что на границе их слияния почти сразу возникают характерные кристаллы, которые быстро увеличиваются в размерах и в числе, распространяясь по всему препарату. Florense полагал, что этот способ специфичен для спермы человека.

Хотя химическая природа образующихся кристаллов оставалась в то время неизвестной, реакция все же подкупала своей простотой и быстротой выполнения. Однако когда ряд исследователей занялись ее проверкой, то выяснилось, что положительный результат получается с некоторыми алкалоидами, выделениями из женских половых органов, вытяжками из загнивших внутренних органов, соком растений, раздавленными насекомыми. В 1907 г. Н. С. Бокариус установил, что кристаллы Флоранса представляют собой йодхолин. Тем самым была окончательно опровергнута «специфичность» этой реакции, поскольку холин весьма широко распространен в живой природе. За реакцией Флоранса сейчас осталась лишь роль предварительной пробы, к тому же весьма ненадежной, поскольку иногда кристаллы не образуются и в заведомо известных пятнах спермы.

Из модификаций реакции Флоранса можно упомянуть способ Баэки. Вытяжку из пятна смешивают с реактивом Флоранса, высушивают на воздухе. Кристаллы хорошо видны под микроскопом. Каких-либо особых преимуществ эта реакция не дает.

Barberio (1905) предложил микрокристаллическую реакцию, которая иногда находит применение и в настоящее время. Техника ее аналогична реакции Флоранса, реактивом служит раствор пикриновой кислоты. При наличии спермы выпадает светло-желтый осадок из желтоватых микрокристаллов игольчатой и ромбовидной формы, напоминающих точильные бруски. Реакция довольно капризна и требует точного дозирования вытяжки и реактива. Автор считал, что она специфична для спермы человека. Специфичность реакции Барберิโอ для спермы проверялась многими авторами, причем результаты получались противоречивые. Реакцию применяли как в оригинальной прописи, так и с некото-

рыми модификациями. Было установлено, что кристаллы Барберии представляют собой двойную соль пикросперминофосфат. Большая распространенность в живой природе спермина сразу подорвала представление о «специфичности» реакции.

Н. С. Бокариус (1907, 1910) наблюдал образование кристаллов Барберии при воздействии на спермин многих аминокислот (пиперазин, нейрин и др.) и некоторых алкалоидов. Иногда он получал отрицательный результат со следами спермы. Признавая за реакцией значение лишь предварительной пробы, он несколько видоизменил ее, введя в качестве реактивов пикроазотную кислоту, йодид кадмия и раствор гуммиарабика.

Такаута (1907) предложил микрокристаллическую реакцию, которая как с химической стороны, так и по экспертному значению мало чем отличается от реакции Флоранса. За рубежом охотно пользуются предварительной пробой Нидерланда (1933). К вытяжке из пятна добавляют 3% раствор серной кислоты — образуются сильно преломляющие свет, блестящие, призматические, весьма стойкие кристаллы сернокислого кальция. В Советском Союзе иногда применяют ориентировочную реакцию Пуранена (1936) с раствором нафтолового желтого (динитронафтолсернокислый натрий). Под микроскопом видно выпадение крупных оранжевых крестообразных кристаллов флавианатспермина. Неспецифичность этой реакции, основанной на выявлении спермина, очевидна. Кроме того, на ее результаты часто влияет предмет-носитель. П. В. Устинов (1955) предложил заменить реактив Флоранса йодистоводородной кислотой.

Seta и соавторы (1972) пытались обнаруживать сперму в пятнах посредством электронного микрозонда: выявлялось характерное для спермы распределение микроэлементов, позволяющее устанавливать семенную природу пятна. Griffiths с соавторами (1964) устанавливали наличие спермы по креатин-фосфорной кислоте. В сперме ее содержание составляет 385—14 000 ед/мл, в других выделениях — значительно меньше. Однако отмечено, что при патологических состояниях количество креатин-фосфорной кислоты в сперме резко падает и тогда стирается грань между семенной жидкостью и другими субстратами. Авторы сами признают за предлагаемым методом значение лишь предварительной пробы.

Uedo и соавторы (1962) использовали присутствие в сперме цинка, который в других биологических жидкостях содержится в значительно меньшем количестве или совсем отсутствует. Выявлять сперму по цинку (микроспектральным путем) предложила также Н. М. Серобян (1962). Аналогичным методом пользовался Р. А. Айдинян (1962). Однако специфичность метода с точки зрения доказательства семенной природы объекта вызывает сомнение. Цинк широко распространен в быту, он может попасть на белье и одежду при стирке в оцинкованном корыте, при пользовании «полотняными» пуговицами (цинковые диски, обтянутые материей), при употреблении металлической стиральной доски, при применении мазей и присыпок, содержащих цинк, и др.

Erben (1971) установил содержание фруктозы в сперме 1—6 г/л. Он определял фруктозу в пятнах спермы двумя способами: хроматографией на бумаге и в тонком слое силикагеля. Метод позволяет дифференцировать фруктозу от других сахаров.

П. А. Кузнецов (1975) рекомендует в качестве ориентировочной пробы использовать реакцию на фруктозу. Он исследовал пятна спермы давностью происхождения до 4 лет. В свежих пятнах содержание фруктозы было около 4,4 г/л, в дальнейшем оно снижалось до 0,8 г/л.

В других выделениях фруктоза не выявлялась. Во фруктовых соках концентрация фруктозы достигает 8 г/л.

Если говорить об общей оценке существующих микрокристаллических проб, то можно согласиться с мнением Balthazard о том, что эти пробы вообще не нужны, тем более что они всегда сопряжены с неоправданным расходом материала вещественного доказательства. То же относится в определенной мере и к другим микрохимическим пробам: они или неспецифичны, или находятся еще в стадии экспериментальной разработки.

СЕРОЛОГИЧЕСКИЙ СПОСОБ

Успехи серологии и появляющиеся сообщения о получении органоспецифических сывороток, естественно, направили мысль исследователей на возможность изготовления таких иммунных сывороток, которые могли бы служить для установления спермы при производстве судебно-медицинских экспертиз.

Еще в 1905 г. Pfefer пытался приготовить иммунную сыворотку путем иммунизации животных белками, характерными для спермы, оставшимися после удаления общих для всего организма белков. Однако полученные сыворотки не обладали строгой органной специфичностью.

С тех пор многие исследователи неоднократно предпринимали попытки изготовить преципитирующие сыворотки для обнаружения спермы, иммунизируя животных различными компонентами семенной жидкости человека. В частности, в качестве антигена использовали цельную сперму, отмытые сперматозоиды, различные адъюванты (вещества, способствующие более активной выработке антител), кислую фосфатазу, полученную непосредственно из предстательной железы, семенную плазму и др. Результаты получены противоречивые. Один и тот же способ некоторыми авторами оценивается как высокоспецифичный в опыте и в экспертизах, в то время как другие указывают на неспецифические явления, вызываемые присутствием сывороток крови, органических антигенов, других жидкостей человеческого организма, растительной фосфатазы. Это обстоятельство становится понятным, если учесть большое количество белков и других компонентов, содержащихся в сперме, примененной для иммунизации. Каждый из них может обладать активным антигенным действием. Эти же компоненты в разных количествах и комбинациях могут содержаться и в других биологических жидкостях, кроме спермы.

В литературе сообщалось об иммунизации кроликов человеческой спермой и получении органно-видоспецифической сыворотки, открывающей лишь белок семенной жидкости человека (В. П. Чернов, 1971). Однако сведения о применении этой сыворотки для исследования вещественных доказательств пока отсутствуют.

И. А. Концевич и соавторы (1976), иммунизируя кроликов сперматозоидами и экстрактом из яичек человека и животных, получили сыворотку, которая обладала достаточным титром и специфичностью в реакции со следами спермы.

Grodecka и соавторы (1973) получили сыворотку с титром 1 : 512, реагировавшую с пятнами спермы в реакции электропреципитации и не реагировавшую со слюной. Сыворотку получили, иммунизируя кроликов

белковыми фракциями спермы, из которой высаливанием была удалена альбуминовая фракция. Эту сыворотку авторы использовали в экспертизах. Однако остается неясным, как реагирует данная сыворотка с другими биологическими объектами.

Евгев (1971), подкожно иммунизируя кроликов по способу Фрейнда свежей семенной жидкостью человека, получал сыворотку, специфически реагировавшую со спермой. Реакция получалась даже при разведении сыворотки 1 : 40 000. С секретом влагалища, слюной, слизью из канала шейки матки и сывороткой крови реакция не получалась.

Тугowska и соавторы (1975) иммунизировали кроликов центрифугированной семенной жидкостью с адьювантом Фрейнда. Полученные абсорбированные сыворотки имели титр 1 : 8—1 : 32. Их использовали для выявления спермы методами электропреципитации и электродиффузии. С помощью данных сывороток пытались также дифференцировать кислую простатическую фосфатазу от фосфатазы влагалищных выделений, однако этого удавалось достичь лишь с помощью метода иммунодиффузии. Метод электропреципитации для этой цели непригоден.

Оценивая серологический способ с судебно-медицинской точки зрения как средство для обнаружения спермы, следует отметить большую сложность изготовления сывороток и связанную с этим их неизбежную дороговизну, а также и то, что, по наблюдению ряда авторов, получаемые иммунные сыворотки весьма часто обладают низким титром и не всегда гарантируют от неспецифических явлений.

ХРОМАТОГРАФИЧЕСКИЕ СПОСОБЫ

За последнее время в практику лабораторных исследований широко внедряются хроматографические способы. Они бывают различных видов: адсорбционная, осадочная, газовая, ионообменная и распределительная. Распределительная в свою очередь подразделяется на циркулярную, восходящую и нисходящую. Она может быть одномерной и двухмерной. В связи с этим предпринимаются попытки применить их и для обнаружения отдельных составных частей спермы (обычно холина и

спермина) в пятнах для целей судебно-медицинской экспертизы.

Принцип хроматографии состоит в следующем. На бумагу или на стеклянную пластинку, на которую предварительно нанесен слой сорбента (например, крахмальный, полиакриламидный гель, силикагель, окись алюминия), помещают вещество, подлежащее исследованию. Место нанесения данного вещества называют линией старта. Далее, на конец бумаги или стеклянной пластинки с нанесенным веществом воздействуют системой растворителей. По мере продвижения жидкости по бумаге или по пластинке происходит разделение веществ, входящих в состав исследуемого объекта. Границу продвижения жидкости (линию фронта) отмечают, бумагу или пластинку высушивают и проявляют реактивом, окрашивающим искомое вещество. Важную идентификационную роль играет величина R_f , т. е. отношение расстояния, пройденного исследуемым веществом, к расстоянию, пройденному растворителем. Для разных веществ величина R_f различна, ее сравнивают со стандартом искомого вещества. Наилучшие результаты при различении и идентификации холина и спермина дает метод хроматографии в тонком слое сорбента. Однако сам по себе факт выявления холина и спермина ни о чем не говорит, поскольку эти вещества широко распространены в природе и, в частности, входят в состав многих выделений.

Многие авторы посвятили свои работы хроматографическому определению холина и спермина в сперме. Fiori (1955) с помощью хроматографии на бумаге обнаруживал спермин в водных вытяжках из пятен. Растворителями служили бутанол, уксусная кислота и вода, проявителем — раствор нингидрина в хлороформе. Он предложил и другой способ: прикладывать пятно спермы непосредственно к хроматографической бумаге. Thoma и соавторы (1959) получали экстракт из пятна с помощью воды и хлороформа, вытяжку концентрировали и наносили на хроматографическую бумагу. Растворители — метанол и вода, проявитель — раствор нингидрина в бутаноле с уксусной кислотой. Спермин ($R_f=0,62$) обнаруживали даже при азооспермии. В слюне и кале концентрация спермина настолько мала, что в данной реакции получался отрицательный результат. Yano (1970) идентифицировал сперму в жидком виде

и в пятнах по холину и спермину посредством хроматографии в тонком слое на силикагеле. Положительный результат был получен как с нормальной спермой, так и при азооспермии, а также в загнившей семенной жидкости. В других выделениях и в крови холин и спермин не обнаружены. Этим же способом обнаружения спермы пользовался Hallcock (1974). На хроматограмме он выявлял спермин йодплатинатом калия, — холин — концентрированной серной кислотой.

Прокоп и соавторы (1975) считают, что метод обнаружения спермы по спермину и холину посредством хроматографии на бумаге ненадежен, так как он основан на выявлении по существу неспецифических компонентов спермы — холина и спермина. С этим мнением следует согласиться. Даже используя данный метод как предварительную пробу, следует иметь в виду, что в связи с относительно высокой его чувствительностью и недостаточной специфичностью положительный результат исследования всегда будет менее доказательным, чем отрицательный, поскольку реакция будет обнаруживать ничтожные количества холина и спермина, находящиеся в объекте вне зависимости от наличия в нем спермы, а также выявлять другие вещества, реагирующие сходным образом. Кроме того, необходимо учитывать и непроизводительное расходование материала вещественного доказательства.

При исследовании пятен спермы Erben (1971) предложил выявлять фруктозу. Он пользовался методом хроматографии на бумаге и в тонком слое силикагеля с последующим полуколичественным определением (визуальное сопоставление со стандартом).

Упомянутые недостатки наряду с некоторой громоздкостью метода послужили причиной того, что хроматография не нашла широкого применения при установлении наличия спермы.

ЭЛЕКТРОФОРЕТИЧЕСКИЙ СПОСОБ

Способ электрофореза широко применяется в общей химии. В биологических исследованиях им пользуются для разделения и изучения белков, ферментов и других веществ. Он находит применение также при серологических и иммунологических исследованиях.

Ряд авторов предложили использовать способ электрофореза при исследовании спермы в жидком виде. Кроме того, имеются единичные работы, посвященные электрофоретическому обнаружению спермы в пятнах. Применялись разные методики электрофореза: на бумаге, в агаровом и крахмальном геле. Оказалось, что семенную плазму, так же как и сыворотку крови, можно разделить на белковые и ферментные фракции. Это свойство спермы пытались использовать для ее идентификации.

В 1942 г. Ross и соавторы впервые произвели электрофоретическое разделение белков семенной плазмы человека на бумаге. Были получены 5 фракций — 4 отдельные и 1 непостоянная. Негманн и соавторы (1954) также путем электрофореза на бумаге выявили в семенной плазме 8 фракций, Schneider и соавторы (1954) — 6, Негманн (1959) — до 10 фракций. Кроме того, Негманн сделал весьма важное наблюдение: оказалось, что между фореграммами нормальной и патологической семенной плазмы человека существуют различия.

Ю. В. Павлов (1964) методом электрофореза на бумаге исследовал жидкую сперму и вытяжки из пятен спермы, влагалищной слизи, мочи и сыворотки крови на различных тканях. Он применял веронал-медианоловый буфер с рН 8,6. При разделении жидкой спермы эталоном служила сыворотка крови, а для пятен спермы, выделений из влагалища и мочи — жидкая сперма и сыворотка крови. Жидкая сперма разделялась на 3—6 фракций в зависимости от ее давности. Характерной для спермы является фракция 2-бета (55,33%), соответствующая по подвижности зоне бета-глобулинов.

Б. М. Семенов (1966) методом электрофореза на бумаге обнаружил различия спермы у подростков 14—17 лет и мужчин в возрасте 20 лет. Это обстоятельство следует иметь в виду при установлении наличия спермы по белковым фракциям.

Leithoff и соавторы (1965) с помощью специально приготовленной иммунной сыворотки кролика, органоспецифичной в отношении спермы человека, путем иммуноэлектрофореза смогли отдифференцировать у человека сперму от мочи, слюны, крови.

Villanueva и соавторы (1966) для определения наличия спермы применили метод «двухмерного» электрофореза. Сущность его заключается в том, что на

электрическое поле путем установления электродов воздействуют сначала в одном направлении, а потом, перемещая электроды, в направлении, перпендикулярном первоначальному.

Ruskov (1964) исследовал семенную плазму при воспалительных заболеваниях половых органов и установил, что в патологических эякулятах обнаруживаются изменения числа фракций и количественных показателей в каждой отдельной белковой фракции.

Л. Буреш (1968) предложил идентифицировать сперму путем обнаружения спермина электрофорезом на бумаге. Одновременно с объектом он для сравнения наносил на бумагу смесь спермина и холина. Во всех случаях получен положительный результат со спермой и отрицательный с мочой, слюной, потом, выделениями из влагалища, околоплодными водами и кровью человека, а также со спермой животных.

Нага и соавторы (1969) изучали фракционную характеристику спермы при иммуноэлектрофорезе семенной плазмы с антисывороткой против семенной жидкости. Они обнаруживали линии, характерные для кислой фосфатазы, и выявили ряд новых линий, которые отсутствовали в иммунограммах других биологических жидкостей. Авторы считают их специфичными для спермы и в связи с этим предлагают для соответствующих им компонентов названия бета- и гамма-семиноглобулины. В дальнейшем им удалось изолировать гамма-семиноглобулин и установить его гликопротеидную природу.

Несмотря на некоторую сложность, электрофоретический метод следует признать перспективным. Однако на данном этапе ему нельзя придавать решающего значения при судебно-медицинской экспертизе следов спермы. В этом направлении метод пока еще недостаточно разработан и к тому же получаемая электрофоретическая картина лабильна, слишком зависима от возрастных и патологических особенностей, чтобы позволить строить уверенные экспертные суждения.

ФЕРМЕНТНЫЕ СПОСОБЫ

В связи с тем что в сперме содержатся различные ферменты, возникла мысль выявить те из них, которые были бы специфичны для спермы, и использовать их

для целей судебно-медицинской экспертизы. Однако, поскольку имеющиеся в сперме ферменты в большей или меньшей мере содержатся и в других биологических субстратах, пришлось обратиться к количественным методам их определения, т. е. к отысканию ферментов, количество которых в сперме значительно превышало бы содержание их в других биологических объектах. Внимание исследователей привлекли фосфатазы, поскольку они содержатся в сперме в относительно больших количествах.

Фосфатазами называются ферменты, способные отщеплять фосфорную кислоту от нуклеиновых кислот, фосфатидов, фосфорнокислых эфиров и некоторых других соединений. Известны различные фосфатазы, в частности действующие при кислой, щелочной или нейтральной реакции. Соответственно различают кислую, щелочную и нейтральную фосфатазы. Эти ферменты широко распространены в живой природе, они встречаются во всех животных и растительных клетках, в желчи, соке поджелудочной железы и кишечном соке, в молоке и др. У человека особенно богата фосфатазами слизистая оболочка кишечника, почки, кости, мышцы, предстательная железа.

С точки зрения судебной медицины представляет интерес количественное выражение активности фермента — так называемые единицы ферментативной активности. Разными авторами (Lawes, 1948; Walker et al., 1954, и др.) предложены различные системы вычисления подобных единиц. Для фосфатазы принято пользоваться либо единицами Боданского — БЕ (количество фермента в 100 мл жидкости, которое расщепляет 2 мг неорганического фосфата), либо единицами Киита — Армстронга — КАЕ (количество фермента в 100 мл жидкости, освобождающее 1 мг фенола из фенилфосфата).

Принцип обнаружения фосфатазы следующий. Веществом, в котором предполагают присутствие фосфатазы, воздействуют на соответствующее соединение фосфора — так называемый субстрат. Реакцию проводят в кислой, щелочной или нейтральной среде в зависимости от характера предполагаемой фосфатазы. В случае, если фермент присутствует, происходит гидролиз фосфата, после чего его компоненты открывают с помощью цветной реакции.

В 1925 г. Demuth обнаружил, что в моче человека содержится большое количество кислой фосфатазы. Cutscher и соавторы (1935) впервые обратили внимание на кратковременное повышение содержания кислой фосфатазы в моче только у мужчин. Это навело их на мысль о «выбросе» фосфатазы из половых путей. Продолжив исследования, авторы убедились, что в эякуляте содержится много весьма активной фосфатазы, и пришли к выводу, что источником ее служит предстательная железа. Кроме того, фосфатаза, выделенная предстательной железой, иначе реагировала с различными субстратами, чем фосфатаза мочи; в частности, она была способна расщеплять глицерофосфат. Этот фермент называли кислой простатической фосфатазой, она не была обнаружена в других выделениях (моча, слюна и др.), которые могут встретиться при экспертизе пятен спермы (Kave, 1949).

Однако вскоре эти надежды были поколеблены. Иногда фосфатаза присутствовала, даже если отсутствовали сперматозоиды, и, наоборот, ее не определяли, когда обнаруживали сперматозоиды (Lundquist, 1950). К тому же содержание фосфатазы в пятнах резко снижалось через 6 мес, а многие красящие вещества предметов-носителей полностью ее разрушали. И наконец, иногда исходный уровень фосфатазы оказывался весьма низким, например при хроническом простатите. Это привело к выводу, что реакция с кислой простатической фосфатазой не вполне специфична.

Однако обнаружить сперму с помощью определения кислой фосфатазы все же можно. Активность фосфатазы во влагалище возрастает спустя 6 и 12 ч после сношения и падает по истечении 24 ч (Riisfeld, 1946). С помощью дискэлектрофореза Höhn и соавторы (1971) выявляли два специфичных изофермента кислой фосфатазы. Примесь к сперме крови, мочи, секрета уретры, слюны, пота, слез, молока, чая, кофе, какао не снижает активности фосфатазы, а в высушенных пятнах она сохраняется до 7 сут. Столь малый срок, в течение которого обнаруживаются ферменты в пятнах спермы, ограничивает возможность использования данного метода в условиях практической экспертизы. Предельный срок, в течение которого удастся обнаружить кислую простатическую фосфатазу в содержимом влагалища, — 48 ч после сношения (Pinto, 1959).

Содержание фосфатазы в жидкой сперме варьирует от 400 до 8000 КАЕ на 1 мл, оставаясь высоким даже при азооспермии, в то время как в остальных биологических жидкостях оно не превышает 20 КАЕ (Fisher, 1949; Desmarez, 1967; Walther, 1969). В связи с этим было сделано предположение, что 100 КАЕ фосфатазы служит доказательством семенного происхождения пятна.

Leithoff и соавторы (1965) признают за методом кислой простатической фосфатазы значение лишь предварительной пробы.

При исследовании семенных пятен методом дискового электрофореза Walther (1971), кроме кислой фосфатазы, выявил еще 2 специфичных для спермы изофермента. Наличие данных ферментов вместе с высокой активностью фосфатазы автор считает достоверным доказательством присутствия спермы.

Многие авторы предложили собственную модификацию основного метода выявления активности фосфатазы. Речь шла обычно об использовании различных фосфорсодержащих реактивов: нафтилфосфата (Berg, 1955), фенилфосфата (Kimura, 1959), карбоксифенилфосфата и т. д. По мнению Boucherle и соавт., наличие более 20 КАЕ фосфатазы на 1 см² пятна можно расценить как доказательство наличия спермы.

В СССР методом определения кислой фосфатазы занимались А. Байер (1956) и В. И. Чарный (1965). Последний предложил для определения спермы использовать количественное определение кислой простатической фосфатазы. С этой целью исследуемую вытяжку из пятна инкубируют с раствором бета-глицерофосфата натрия, после чего определяют количество отщепленного фосфатазой неорганического фосфора, которое будет прямо пропорционально активности фермента. Гидролиз глицерофосфата проводят в медиановом буфере в течение 1 ч в термостате при 37°C. Отщепленный фосфор выявляют, добавляя к гидролизату молибденовый реактив и эйконоген. Появляется синее окрашивание (образование молибденового синего), интенсивность которого определяют с помощью фотоэлектроколориметра. На основе полученных данных строят соответствующую кривую для пересчета на количество отщепленного фосфора. Параллельно ставят контрольные опыты, определяя количество неорганического фосфора в ис-

следуемой жидкости (не инкубируя) и в реактивах. Для правильного течения реакции необходимо надлежащим образом провести экстрагирование фосфатазы и выбрать подходящее разведение вытяжки. От этого зависит многое: если фосфатаза содержится в большом количестве, то гидролиз глицерофосфата протекает плохо, а при большом разведении можно пропустить пятна спермы со слабой активностью фосфатазы. В других биологических жидкостях содержание фосфатазы не превышает 1 БЕ. В. И. Чарный не придает особого значения кислой фосфатазе, обнаруживаемой в растительных объектах, поскольку в ходе экспертизы всегда исследуют и предмет-носитель.

В. И. Чарный рекомендует применять количественный метод определения кислой простатической фосфатазы как дополнительное доказательство наличия спермы. Однако метод количественного определения фосфатазы может иметь и самостоятельное значение, поскольку обнаружение ее в большом количестве дает право говорить о семенном происхождении пятна даже при отрицательном результате морфологического исследования. Desmarez (1967) считает реакцию с кислой фосфатазой специфичной, позволяющей путем полуколичественного и количественного определения доказать наличие спермы. Кислая фосфатаза присутствует во многих тканях, но это, по мнению автора, не имеет значения, так как содержание ее в сперме составляет 500—3500 ед/мл, в других биологических жидкостях — не более 5 ед/мл, а в пятнах пищевых веществ — 10 ед/мл. Ложноположительный результат возможен при исследовании пятна крови или сыворотки больного раком простаты. В этом случае кровь очень богата кислой фосфатазой. Кислая фосфатаза не разрушается под действием влагалищных выделений. В пятнах спермы фермент удается обнаружить спустя несколько месяцев.

Однако возможен и ложноотрицательный результат, так как противозачаточные средства и дезинфицирующие вещества, применяемые для спринцевания, полностью подавляют активность фосфатазы. Кроме того, активность ее слабо выражена у лиц, перенесших резекцию предстательной железы. Активность фосфатазы не зависит от количества сперматозоидов: при азооспермии она составляет 750—2000 ед/мл.

Д. Д. Джалалов (1976), оценивая доказательное значение обнаружения кислой фосфатазы, а также холина, спермина и большого количества свободных аминокислот в подозрительных на сперму следах, указывает, что каждая из этих методик в отдельности не достоверна, но совокупность их положительных результатов подтверждает семенное происхождение пятна. Он предложил использовать метод восходящей хроматографии на бумаге, применив собственную модификацию растворителей и окраски. Данный способ позволяет одновременно определять все указанные компоненты семенной жидкости, причем полученные хроматограммы спермы резко отличаются от хроматограмм других выделений, а также сока растений.

Ряд авторов изучали сроки, в течение которых кислая фосфатаза сохраняется в половых путях женщины. Rupp (1969) с помощью нафтилфосфата исследовал активность кислой простатической фосфатазы в половых путях женщин после полового акта. Активность обнаруживалась в течение 24 ч после сношения (срок наблюдения) даже в тех случаях, когда обнаружить сперматозоиды уже не удавалось. Тщательное мытье после полового акта и даже спринцевание влагалища не препятствовали обнаружению фосфатазы. Ее активность сохранялась также во влагалищном содержимом, сохранявшемся в пробирке при комнатной температуре без добавления консерванта в течение 179 сут. В чистой сперме, сохранявшейся при аналогичных условиях в течение 474 сут, реакция на фосфатазу тоже давала положительный результат. Автор обнаружил высокую активность кислой простатической фосфатазы в содержимом влагалища набальзамированного трупа женщины через 30 ч после смерти.

По данным Eunprabhanth (1974), кислая фосфатаза четко выявляется во влагалище в течение первых суток после полового акта, а в дальнейшем (срок наблюдения 6 сут) — слабо и не во всех случаях, а по данным Enos и соавторов (1963), активность ее во влагалище сразу после сношения составляет 270 БЕ, через 3 ч падает до 48 БЕ, а через 12 ч не обнаруживается совсем.

По мнению А. К. Туманова (1975) и Mueller (1975), реакцию с кислой фосфатазой следует использовать как хорошую ориентировочную пробу, однако ее положительный результат нельзя считать доказательным при

отсутствии сперматозоидов. Они указывают, что и в других биологических объектах могут находиться большие количества этого фермента, в то время как в сперме содержание кислой простатической фосфатазы иногда бывает весьма незначительным.

В литературе наряду с положительными оценками фосфатазной реакции нередко можно встретить различные оговорки, а подчас и прямые возражения против использования метода кислой простатической фосфатазы при судебно-медицинской экспертизе семенных следов.

Leithoff подчеркивает затруднительность использования фосфатазного метода в связи с отсутствием четких границ содержания фермента в различных выделениях человека, некоторых животных, в капусте, клевере и др. Он предупреждает также о возможных ошибках, когда щелочную фосфатазу принимают за кислую.

По данным Christensen (1963), содержание кислой простатической фосфатазы колеблется в широких пределах при заболеваниях печени, предстательной железы и др.

Науск и соавторы (1965) считают реакцию с кислой простатической фосфатазой неспецифичной. Отрицательный результат не исключает сперму, так как кислая фосфатаза подвержена быстрому разрушению, а положительный — наступает с несеменными объектами.

По данным Walther (1968), современные моющие средства резко снижают активность кислой простатической фосфатазы вследствие разрушения ферментной молекулы, а при температуре выше 40°C они быстро вызывают полное прекращение активности фермента.

М. А. Бронникова и соавторы (1967) не рекомендуют пользоваться методом кислой простатической фосфатазы как доказательством наличия спермы.

Зарубежные эксперты нередко используют реакции кислой простатической фосфатазы при исследовании семенных пятен, но преимущественно как предварительную пробу.

Прокор и соавторы (1975) рекомендуют весьма осторожно оценивать положительный результат исследования на кислую простатическую фосфатазу, учитывая, что эта реакция не является специфичной для спермы.

В нашей стране реакция с кислой простатической фосфатазой пока не получила широкого применения в

пра
мен
лую
ческ
ного
фер
во
спер
отсу
соот
мы,
при
быт
ны
ной
новл
зы в
фосф
миче
ни,
нию
тор
прим
держ
кост
упро
И
лага
ся в
А
тивн
пере
Он п
мы,
F
гидро
реза
ствен
(1974
роген
способ
семен

практической судебно-медицинской экспертизе. Тем не менее метод обнаружения спермы реакциями на кислую простатическую фосфатазу представляет теоретический и практический интерес и заслуживает углубленного изучения и совершенствования.

Можно считать, что показатели высокой активности фермента (приблизительно 100 БЕ) в объекте дают право с достоверностью сделать заключение о наличии спермы. При низкой активности фермента, а также при отсутствии ее результат нельзя считать достоверным и соответственно нельзя делать вывод об отсутствии спермы, так как фосфатаза, даже если она первоначально присутствовала на объекте в большом количестве, могла быть разрушена под действием внешних факторов.

Накопление материала и дальнейшие поиски должны идти главным образом по линии изучения ферментной активности различных биологических веществ, установления четкой границы между содержанием фосфатазы в семенных и других пятнах, изучения устойчивости фосфатазы в пятнах по отношению к физическим и химическим воздействиям (в частности, к красителям ткани, моющим средствам, застирыванию и проглаживанию пятен и др.). Немаловажную роль играет и фактор времени, влияние различных заболеваний, а также применение различных медикаментозных средств на содержание фосфатазы как в сперме, так и в других жидкостях человеческого организма. Желательно также упрощать технику проведения реакции.

Имеются единичные работы, авторы которых предлагают обнаруживать сперму по другим содержащимся в ней ферментам.

А. С. Янкунас (1965) рекомендует использовать активность трансаминазы — фермента, способствующего переносу аминок групп от одной аминокислоты к другой. Он получал положительные результаты в пятнах спермы, имеющих давность до 9 лет.

Farriaux и соавторы (1967) исследовали лактатдегидрогеназу в человеческой сперме методом электрофореза в агаровом геле. Они обнаружили фракцию, свойственную только сперме. А. С. Гладких и соавторы (1974) изучили дополнительный компонент лактатдегидрогеназы — ЛДГ-«Х» в сперме. Электрофоретическим способом они установили специфичность ЛДГ-«Х» для семенной жидкости. Данный метод можно использовать

как доказательство семенной природы пятна при ненахождении сперматозоидов.

Х. Шмехта и соавторы (1976) изучали распределение этого изофермента в сперме методом электрофореза. Они утверждают, что ЛДГ-«Х» содержится только в сперматозоидах, но не в семенной плазме. Обнаружение его в вытяжке из пятна можно расценивать как доказательство присутствия сперматозоидов, даже если они разрушены или не выявляются морфологически по какой-либо другой причине.

Griffits и соавторы (1964) предлагали определять в сперме креатинфосфокиназу, используя в качестве субстрата фосфаткреатин, однако Suyata и соавторы (1968) установили, что фосфаткреатин может самопроизвольно расщепляться в кислой среде, а также неспецифически расщепляться под действием простатической фосфатазы, содержащейся в человеческой сперме. Авторы считают, что если активность креатинфосфокиназы и существует в сперме, то она настолько незначительна, что не может быть использована в судебно-медицинской экспертизе.

Также не получил надежных результатов и Walther (1968), пытавшийся выявлять активность креатинфосфокиназы в ультрафиолетовых лучах.

Тран ван Ку и соавторы (1968) предложили обнаруживать сперму по степени активности щелочной фосфатазы и лейцинаминопептидазы, которая в семенной жидкости выше, чем, например, в сыворотке крови.

В итоге можно сказать, что, прежде чем рекомендовать эти реакции для судебной медицины, нужно провести обширные дополнительные исследования, главным образом относительно содержания данных ферментов в несеменных субстратах, а также влияния патологических состояний организма. Кроме того (а это относится ко всем ферментным способам), следует учитывать снижение активности ферментов у пожилых и старых людей, в том числе фосфатазы (И. В. Давыдовский, 1966).

ФИТАГГЛЮТИНАЦИОННЫЙ СПОСОБ

Фитагглютинацией называется способность некоторых растительных экстрактов, в частности из семян мотыльковых, агглютинировать морфологические элементы, содержащиеся в биологических жидкостях.

В 1908 г. Landsteiner и соавторы установили, что экстракты из бобов, гороха, чечевицы агглютинируют эритроциты крови человека и некоторых животных. То же подтвердили Wienhaus и соавторы (1907—1922).

Исследованиями Wienhaus (1907), Kobert (1913) и др. обнаружен ряд растительных гемагглютининов в семенах гороха, чечевицы, пасленовых, а также в грибах, в клубнях картофеля и в плодах томата.

Фитагглютинины содержатся почти исключительно в семенах растений, а у картофеля — в клубнях.

Marcusson-Begun (1926), сравнивая агглютинабельность эритроцитов человека и животных агглютинином картофеля, установила, что лучше всего агглютинируется кровь крысы (разведение картофельного сока до 50 000), хуже всего — кровь лошади (разведение сока до 20). Кровь человека агглютинируется при предельном разведении до 2000. Отмечены индивидуальные различия в степени агглютинабельности эритроцитов у людей. В опытах Marcusson-Begun (1926) был использован обычный картофель, особых различий в содержании агглютинина в общем не отмечено, хотя попадались единичные проросшие клубни, сок которых действовал очень слабо или совсем не действовал. Автор применяла высокие разведения картофельного сока, так как иначе наступали гемолиз эритроцитов и денатурация гемоглобина. Этот гемолиз удавалось предотвратить, предварительно нагревая сок до 56°C в течение часа. Такая обработка не снижала титр агглютинина, но препятствовала гемолизу, даже при высокой концентрации сока картофеля, хотя некоторая денатурация гемоглобина (коричневая окраска) все же имела место. Агглютинин картофеля выдерживал нагревание до 60°C в течение часа. При дальнейшем повышении температуры титр снижался, а при 100°C активность агглютинина полностью исчезала. Картофельный сок можно беспрепятственно хранить на холоду 2 мес и более. Добавление консервантов — фенола или алкоголя — не снижало титра и не вызывало осаждения агглютинина.

Bird (1954) обнаружил, что экстракт из индийского картофеля лучше реагирует с отмытыми от сыворотки эритроцитами. По его мнению, агглютинин картофеля вообще существенно отличается от других экстрактов, приготовленных из семян.

Я. Бржецка (1955) нашла, что агглютинин картофеля обладает значительной иммунологической активностью — он способен преципитировать сыворотку крови и агглютинировать эритроциты человека и животных. Эти свойства резче всего выражены в зрелых и значительно слабее — в молодых клубнях, а также в других частях растений. Однако подметить какую-либо специфичность данной реакции не удалось.

Godzinska и соавторы (1956) испытывали экстракты из *Datura stramonium*, *Vicia sativa*, *Golega officinalis*, *Ricinus communis*, *Solanum tuberosum* и установили, что задержка агглютинации не зависит от групповой принадлежности крови и от категории выделения. Лишь у *Datura stramonium* ингибиторный эффект с сывороткой группы 0 был заметнее, чем с А и В. Сыворотки животных также вызывали задержку агглютинации. Задерживающие свойства сохранялись даже после фракционного высаливания и удаления белка нагреванием.

Reimann и соавторы (1962) изучали возможность дифференцирования коровьего молока от женского посредством растительных реагентов. Они смогли осуществить это посредством прямой реакции преципитации и непрямой реакции задержки агглютинации. Из числа проверенных фитагглютининов четкий положительный результат в реакции преципитации удалось получить только с экстрактом из стручков *Sophora Japonica*. Что касается сока картофеля, то он преципитировал в этих опытах как женское, так и коровье молоко, причем последнее — значительно сильнее. Сок томатов (*Solanum lycopersicum*), экстракт из семян *Vicia sativa*, *Dolichos biflorus*, *Dolichos lab.*, *Pisum sativum*, *Phaseolus vulgaris*, а также оболочки семян *Bauhinia alba*, *Bauhinia purpurea* преципитировали коровье и женское молоко, или, наоборот, реагировали не со всеми пробами женского молока. Данный экстракт всегда положительно реагировал с жидкостями человеческого организма, включая группу 0, и не реагировал с белками животных (Reimann et al., 1961). Авторы проводили с агглютинином картофеля прямую реакцию задержки агглютинации человеческих эритроцитов. Положительный результат получен только с женским молоком.

Raszeja (1964) установил, что сперма, слюна и женское молоко способны задерживать реакцию агглюти-

нации ч
экстрак
тагглют

Таки
тили во
ности со
рования
следова
без про

В на
но прим
разрабо
акция в
раторий
охранен

Суш
сок аггл
повой п
ет с эри
пятствуе
(реакци

Дейс
вающим
биновая
кирующ
реакции
рый сод
Тестосте
мон, пр
рые сти
ков. Он
женным
стостеро
клеткам
гих орга

Для
тофеля т
растворе
ласкиван
натрия и
жимают
фильтр
Срок хра
варитель

нации человеческих эритроцитов группы 0, вызываемую экстрактом из гриба *Laccaria laccata*, содержащим фитагглютинин анти-Н.

Таким образом, большинство исследователей отметили возможность применения фитагглютининов, в частности сока картофеля, для обнаружения и дифференцирования выделений организма. Однако проведенные исследования носили в основном характер эксперимента без проверки в практической экспертной работе.

В нашей стране для обнаружения спермы повсеместно применяется реакция с фитагглютинином картофеля, разработанная Л. О. Барсегянц (1965—1970). Эта реакция внедрена в практику судебно-медицинских лабораторий методическим письмом Министерства здравоохранения СССР (1975).

Сущность реакции состоит в том, что картофельный сок агглютинирует эритроциты независимо от их групповой принадлежности, но наиболее отчетливо реагирует с эритроцитами группы 0. Присутствие спермы препятствует наступлению «картофельной» агглютинации (реакция задержки агглютинации).

Действующим началом картофельного сока, вызывающим фитагглютинацию, является витамин С (аскорбиновая кислота). Активным компонентом спермы, блокирующим агглютинирующее действие витамина С в реакции фитагглютинации, является тестостерон, который содержится в сперматозоидах и в семенной плазме. Тестостерон представляет собой мужской половой гормон, принадлежащий к андрогенным стероидам, которые стимулируют развитие вторичных половых признаков. Он вырабатывается клетками Лейдига, расположенными в интерстиции яичка. Наряду с яичками тестостерон продуцируется в семявыводящих канальцах клетками Сертоли, а также вырабатывается и в других органах.

Для того чтобы приготовить реагент, клубень картофеля тщательно промывают в воде и в изотоническом растворе хлорида натрия, срезают кожуру, вновь ополаскивают клубень изотоническим раствором хлорида натрия и трут на терке. Сок из полученной массы отжимают через марлю, фильтруют через бумажный фильтр и сохраняют в склянке с притертой пробкой. Срок хранения 2—4 дня. Марлю, сосуды и фильтр предварительно стерилизуют.

Титр картофельного сока должен быть 1 : 32. При более высоком титре задержка агглютинации, как правило, не происходит, а при низком агглютинацию полностью или частично задерживают другие выделения, кровь, гной и др. Сок большинства сортов картофеля имеет титр 1 : 32 при разведении изотоническим раствором хлорида натрия 1 : 50 (1 часть сока + 50 частей изотонического раствора). Разведенный 1 : 50 сок титруют эритроцитами группы 0, для чего разводят его в геометрической прогрессии до 1 : 512. К 2 каплям сока в каждом разведении добавляют 1 каплю 1% взвеси однократно отмытых эритроцитов, смесь центрифугируют в течение 10 мин при 2500—3000 об/мин и энергично встряхивают в штативе. Наибольшее разведение сока, с которым происходит агглютинация при микроскопическом исследовании, является показателем его титра. Если титр разведенного 1 : 50 сока оказывается бóльшим, чем 1 : 32, сок дополнительно разводят изотоническим раствором хлорида натрия и снова титруют. Если показатель титра ниже 1 : 32, новую порцию сока разводят не 1 : 50, а меньше и тоже титруют. Таким путем выясняют нужное для реакции рабочее разведение сока, приводящее его к титру 1 : 32.

Действие картофельного сока в рабочем разведении проверяют с вытяжками из пятен (на марле) слюны, мочи, пота, выделений из носа, из влагалища, сыворотки крови, гноя, периферической и особенно менструальной крови.

Во всех случаях должна иметь место агглютинация, видимая невооруженным глазом (отсутствие задержки агглютинации).

Материал для исследования. После описания вещественного доказательства и имеющих на нем следов, а также проведения реакции установления наличия или отсутствия крови обследуют объект при помощи картофельного сока. Для этого делают вырезки из объекта в местах расположения следов, подозрительных на сперму, обнаруженных визуально и выявленных путем микр люминесцентного исследования. Если такие следы отсутствуют, кусочки материала вырезают из различных участков вещественного доказательства, располагая вырезки на незначительном расстоянии друг от друга и отмечая локализацию их порядковыми номерами на пришиваемых бирках. Аналогично поступают с окровавлен-

ными участками вещественного доказательства. Кусочки исследуемого материала и равные по массе кусочки контрольных участков предмета-носителя, взятые в непосредственной близости к первым, кусочки из заведомого пятна спермы (контроль) экстрагируют изотоническим раствором хлорида натрия в течение 20—24 ч при температуре от $+4$ до $+8^{\circ}\text{C}$ (изотонический раствор должен полностью смачивать материал и оставаться лишь в незначительном избытке).

В подавляющем большинстве случаев для проведения реакции достаточны кусочки материала с массой в 1 мг.

Проведение реакции. К 1 капле каждой вытяжки добавляют 1 каплю картофельного сока, разведенного до титра 1:32, и 1 каплю 1% взвеси однократно отмытых эритроцитов группы 0. Кроме того, для контроля 1 каплю картофельного сока в рабочем разведении смешивают с 1 каплей взвеси тех же эритроцитов. Все смеси центрифугируют в течение 10 мин при 2500—3000 об/мин и энергично встряхивают в штативе. Результат реакции учитывают последовательно невооруженным глазом, с лупой и микроскопически.

Положительным результатом считают полное отсутствие агглютинации или частичную, но значительную ее задержку (агглютинация, обозначаемая при микроскопическом исследовании \mp или $— +$), при наличии в контрольных пробирках с вытяжками из предмета-носителя и с картофельным соком, к которому вытяжки не добавлялись, агглютинации, различимой невооруженным глазом, и полного отсутствия при микроскопическом исследовании агглютинации с вытяжкой из заведомого пятна спермы. Продолжительность реакции около 15 мин.

Препараты, приготовленные для микроскопического определения степени задержки агглютинации, тщательно исследуют, так как в них нередко среди эритроцитов можно обнаружить сперматозоиды.

Это обстоятельство само по себе считается достаточным доказательством семенного происхождения пятна.

Аналогичное исследование проводят с препаратами, изготовленными из всего количества жидкости, в которой экстрагировался объект. Для уточнения диагностики препараты окрашивают, добавляя в них по 1 капле, например, 0,5% раствора эритрозина в аммиаке или 10% раствора кислого фуксина. Выявление сперматозоидов в препаратах освобождает от необходимости дальнейших действий с целью установления наличия спермы.

Если сперматозоиды таким путем не обнаруживаются, подвергают обычному морфологическому исследованию под микроскопом кусочки материала, из которых делали вытяжки для реакции с картофельным соком. Если же сперматозоиды не выявляются и в этом случае, исследуют обычным морфологическим методом кусочки материала, заново вырезанные из той области вещественного доказательства, где ранее был взят материал для реакции с картофельным соком.

В редких случаях сперматозоиды обнаруживают при отрицательном результате реакции с картофельным соком (отсутствие задержки агглютинации). Причиной этого чаще всего являются технические погрешности: применение сока с истекшим сроком хранения (более 4 дней) или с чрезмерно высоким титром (1 : 64 и выше вместо обязательного титра 1 : 32). Эти нарушения могут приводить к отрицательному результату реакции с заведомо семенными объектами. Кроме того, известно, что сок южных сортов картофеля менее активен, чем северных. В связи с этим лабораториям, работающим в южных районах, целесообразно заготавливать картофель из северных районов. Годовая потребность лаборатории в картофеле обычно не превышает 2 кг, а при хранении в темном, прохладном месте активный фит-агглютинин в клубнях (в отличие от сока!) хорошо сохраняется в течение длительного времени, причем даже подсохшие (сморщенные) и проросшие клубни пригодны для работы (А. К. Туманов и др., 1970).

Обычная обработка пятен большинством отечественных моющих средств в течение 45 мин, застирывание с мылом в течение 3 мин не препятствуют обнаружению тестостерона и сперматозоидов. После более длительной обработки (1 ч) обнаружить тестостерон становится невозможным, а сперматозоиды — трудно. Натронная щелочь в концентрации до 70% допускает определение тестостерона и сперматозоидов лишь при кратковременном воздействии, а уксусная кислота — при концентрации не более 20%. Бензин, керосин и перекись водорода не препятствуют биохимическому и морфологическому определению спермы, но пергидроль быстро ее разрушает. Обычная обработка утюгом (5 мин) при сильном нагреве, применяемом для проглаживания натуральных тканей, не влияет на обнаружение тестостерона, но несколько изменяет форму сперматозоидов. То же проглаживание в течение 10 мин разрушает сперматозоиды и делает задержку агглютинации непостоянной. Проглаживание утюгом при слабом нагреве (около 100°C) в течение 10 мин не влияет на задержку агглютинации, но разрушает сперматозоиды, а при воздействии в течение 15 мин тестостерон обнаруживается не во всех случаях (Л. О. Барсегянц, 1970).

Задержка агглютинации в реакции с картофельным соком происходит не только со спермой, но также с

женским и кобыльим молоком. Однако следы молока легко отличить от следов спермы реакцией на жир. Для этого каплю вытяжки на предметном стекле смешивают с каплей метилового алкоголя и делают тонкий мазок, который высушивают при комнатной температуре. Стекло с мазком помещают в вертикальном положении на 20 мин в сосуд с раствором судана III (1 часть ацетона, 1 часть 70° этилового алкоголя, порошкообразный судан до получения перенасыщенного раствора), после чего промывают в течение 1 мин 50° этиловым алкоголем. После высыхания препарат подвергают микроскопическому исследованию. Если пятно было образовано молоком, в мазке содержится большое количество красновато-оранжевых капель жира.

Активным началом картофельного сока в данной реакции служит витамин С. В клубнях картофеля разных сортов содержание данного витамина неодинаково. Сортам, произрастающим в северных областях СССР, присуще большее его количество, чем южным (см. таблицу).

Таким образом, для экспертных целей пригоден любой отечественный сорт картофеля, кроме сорта «Элла», который весьма мало распространен. Л. О. Барсегянц проверила также 24 сорта картофеля, полученного из ГДР. Разведение сока было от 30 до 150 раз; лишь один сорт картофеля реагировал в неразведенном виде, имея титр 1 : 32. Все экстракты специфически реагируют с человеческой спермой и не реагируют с другими выделениями и кровью, а также со спермой быка, барана, хряка, с коровьим молоком. Со спермой жеребца и с кобыльим молоком происходит реакция задержки агглютинации. Была предпринята попытка использовать два сорта картофеля, произрастающего в Англии, однако он оказался непригодным, так как во всех случаях наступал гемолиз эритроцитов.

Четкие результаты в реакции гемагглютинации со спермой человека дает картофель, произрастающий в Польше (Врус et al., 1968).

О. Раданов и И. Пейчев (1970) успешно использовали метод Л. О. Барсегянц для обнаружения спермы в пятнах. Пригодными оказались почти все сорта картофеля, произрастающие в Болгарии. Ложноотрицательный результат получен лишь с пятнами, хранившимися при 56 и 4°C.

**Степень агглютинации эритроцитов агглютинидами,
содержащимися в разных сортах картофеля**

Сорт картофеля	Место преимущественного произрастания	Степень агглютинации и разведение (до титра 1:32)
Аквила	Север БССР (мало распространен)	Умеренная (25 мл солевого раствора + 1 мл сока)
Катюша	Юг СССР	Слабая (5 мл солевого раствора + 1 мл сока)
Северная роза	Центральная нечерноземная зона, Ярославская, Кировская, Московская области	Умеренная
Рекорд	Средняя Азия, юг РСФСР, Прикаспийская область	»
Ульяновский	Среднее и Нижнее Поволжье, Ростовская область, Краснодарский край	»
Октябренок	Пензенская и прилежащие к ней области	»
Корневский	Среднее и Нижнее Поволжье	»
Заозерный	БССР	Очень сильная (150 мл солевого раствора + 1 мл сока)
Корнеа	УССР, Центральная черноземная зона	Сильная
Бульба	Средняя Азия, БССР (мало распространен)	Умеренная
Тулунский	Бурят-Монгольская АССР	Сильная
Крепыш	Средняя Азия, Ростовская область, Краснодарский край	Умеренная
Форан	БССР	»
Вольтман	Повсеместно, но преимущественно в восточной части СССР	»
Роза Полесья	Чувашская АССР, Молдавская ССР	Сильная
Бородянский	Киевская область	Слабая
Петровский	Московская, Калининская, Ярославская, Владимирская, Пензенская, Смоленская области	Сильная
Полесский	УССР	»
Детскосельский	Ленинградская, Новгородская, Смоленская области	Умеренная
Местный алый	Сахалин	Очень сильная

Сорт картофеля	Место преимущественного произрастания	Степень агглютинации и разведение (до титра 1:32)
Южанин	Липецкая, Воронежская, Ростовская области	Очень сильная
Волжский	Среднее и Нижнее Поволжье	Слабая
Элла	УССР	При разведениях 50, 25, 10 и 5 мл солевого раствора на 1 мл сока агглютинация отсутствует. С неразведенным соком—гемолиз
Эпрон	Европейская часть СССР	Сильная
Вирулане	Прибалтика	»
Багарный	Средняя Азия, юг УССР, Краснодарский край, Нижнее Поволжье	Умеренная
Воропаевский	Среднее Поволжье (Ульяновская область)	Сильная
Голландский	Центральная часть РСФСР	Очень сильная
Калание	Прибалтика	Сильная
Казанский	Татарская АССР	»
Нарымский ранний	Восточная Сибирь	Умеренная
Пирмунес	Прибалтика	Сильная
Свитязь	Центральная часть РСФСР	»
Лошидский	БССР	»
Варба	Центральная черноземная зона и УССР	Очень сильная
Народный	Повсеместно	Сильная
Берлихинген	»	»
Передовик	Московская, Смоленская, Калининская области	»
Агрономический	БССР	Довольно сильная
Остботе	Прибалтика, БССР	Слабая
Смоленский	Повсеместно	Умеренная
Олев	Прибалтика и Ленинградская область	Сильная
Камерас	Ленинградская, Новгородская, Смоленская, Владимирская области	»
Курьер	От Московской области к югу по Европейской части СССР	»
Любимец	Московская, Смоленская, Амурская области	Слабая
Филенский	Кировская область	Сильная

Сорт картофеля	Место преимущественного произрастания	Степень агглютинации и разведение (до титра 1:32)
Волжанин	Среднее и Нижнее Поволжье, Ростовская область, Краснодарский край	Сильная
Советский	Центральная нечерноземная зона	Слабая
Ранняя роза (Американка, Варатик)	Повсеместно	Сильная
Парнассия	Центральная часть РСФСР, СССР, БССР	»
Приекульский ранний	Повсеместно	»
Тальвик	Прибалтика	Довольно слабая
Лорх	Повсеместно	Очень сильная

Примечание. Там, где разведение не указано, оно составляло 50 мл солевого раствора на 1 мл сока.

Различные противозачаточные вещества, например контрацептин, лутеинурин, грамицидиновая паста, а также растворы борной и уксусной кислот и примесь этих веществ к пятнам спермы не влияют на результаты реакции гемагглютинации с соком картофеля. Исключение представляет неразведенный лимонный сок, нередко применяемый женщинами как противозачаточное средство. Он подавляет действие картофельного сока. Спринцевание влагалища, проведенное вскоре после сношения, тоже отрицательно отражается на результате реакции, поскольку оно связано с удалением спермы из влагалища.

Реакция с соком картофеля рассматривается как вспомогательная и ни положительный, ни отрицательный ее результат не освобождает эксперта от необходимости провести последующее морфологическое исследование на сперматозоиды, если их не обнаружили ранее. Эта реакция играет существенную роль при судебно-медицинских экспертизах, так как помогает быстро, с минимальной затратой труда выявлять следы, подозрительные на сперму. С ее помощью выявляют примесь спермы к крови, она облегчает обнаружение сперматозоидов, так как они в большинстве случаев быва-

ют видны уже в самом процессе реакции, что создает дополнительные преимущества, позволяя сократить расходование присланного материала. Поскольку картофельный сок способен взаимодействовать со спермой, в которой сперматозоиды отсутствуют (азооспермия, разрушение сперматозоидов), положительный результат реакции позволяет сделать предположительный вывод о происхождении следа от спермы, если в исследуемом пятне выявляется антиген А или В, не свойственный потерпевшей.

Реакция с картофельным соком позволяет в течение одного дня исследовать 300—400 объектов, что особенно важно при экспертизе таких вещественных доказательств, на которых подозрительные в смысле присутствия спермы участки невозможно обнаружить ни невооруженным глазом при обычном свете, ни с помощью ультрафиолетового исследования. К числу таких объектов относятся, например, вещественные доказательства, сплошь пропитанные кровью или очень сильно загрязненные каким-либо другим веществом, либо объекты, на которых вообще не видны никакие пятна. Реакция с агглютинином картофеля дает возможность «прочесать» такое вещественное доказательство на всем его протяжении путем изъятия и исследования очень большого числа вырезок малого размера из различных участков. Исследовать такое количество объектов морфологическим способом было бы невозможно.

Иллюстрацией служат следующие примеры.

Днем 8 ноября гр-ка М. пришла в больницу навестить больного. Ее сопровождал гр-н Л. Из больницы М. и Л. ушли вместе, после чего гр-ка М. исчезла. На следующий день на работе Л. продемонстрировал всем имевшиеся у него на шее и на лбу небольшие ссадины, объяснив, что это — результат побоев, которые нанес ему незнакомый мужчина. Л. был заподозрен в причастности к исчезновению гр-ки М., тем более что последняя ранее рассказывала подругам, что он неоднократно пытался склонить ее к сожителю, от чего она отказывалась. При обыске, произведенном в комнате гр-на Л., на костюме, который был на нем надет 8 ноября, обнаружены многочисленные следы крови, частично замывые. По словам Л., это результат кровотечения из ссадин (как выяснилось в дальнейшем, ссадины он нанес себе сам металлической деталью с тем, чтобы в случае, если будут найдены следы крови, объяснить их происхождение). В ходе следствия Л. вынужден был сознаться в том, что убийство было совершено им, и показал место во дворе, где он зарыл труп гр-ки М.

При исследовании трупа установлено, что смерть наступила от огнестрельного ранения (в полости черепа обнаружена пуля). На

лице, туловище и конечностях трупа найдены свежие ссадины и кровоподтеки. Целость девственной плевы не нарушена.

Со слов Л., 8 ноября он пригласил М. к себе домой, где в это время никого не было. Он вышел из комнаты покормить голубей, а возвращаясь, захватил с собой имевшийся у него самодельный пистолет, который «шутя» навел на гр-ку М. и, не подумав о том, что пистолет заряжен, нажал на спусковой крючок. Раздался выстрел, и М. была убита. После этого Л. отнес труп в сарай, забросал дровами и наскоро замыл следы крови. На следующий день он зарыл труп во дворе. Ссадины на трупе, как объяснил Л., вероятно, образовались в результате падения гр-ки М., последующего перемещения трупа, забрасывания его поленьями и др.

Л. предъявил следователю самодельный пистолет. При баллистической экспертизе было установлено, что пуля, найденная в голове трупа, была выпущена из него.

За неосторожное обращение с оружием, повлекшее случайное убийство, Л. приговорили к сравнительно мягкому наказанию.

При проверке дела в порядке надзора на экспертизу поступило сохранившееся вещественное доказательство: трико умершей. Визуально на нем не было заметно следов, подозрительных на присутствие спермы. В этом случае поиски сперматозоидов морфологическим способом могли занять много дней и даже недель и вообще могли оказаться безрезультатными, поэтому провели фит-агглютинационное исследование с использованием картофельного сока. Исследованию подвергли одновременно многие участки вещественного доказательства. На некоторых из них была обнаружена задержка агглютинации. При морфологическом исследовании в этих участках были найдены сперматозоиды (исследование заняло меньше одного рабочего дня).

Полученные данные поставили под сомнение версию, выдвинутую обвиняемым, и направили следствие по новому руслу. Вынесенный приговор был отменен. В результате доследования выяснилось, что Л. пытался изнасиловать гр-ку М., которая оказала сопротивление, причем Л. нанес М. повреждения в виде ссадин и кровоподтеков. В результате того что у Л. произошла преждевременная эякуляция, сперма попала на трико. Опасаясь ответственности за покушение на изнасилование и угрозы М. сообщить о нем в милицию, Л. совершил умышленное убийство.

Обнаружение спермы имело решающее значение для изобличения преступника, а применение реакции с агглютинином картофеля позволило осуществить экспертизу в минимально короткий срок.

При повторном рассмотрении дела в суде Л. был признан виновным в покушении на изнасилование и в умышленном убийстве с целью сокрытия совершенного преступления. Он был приговорен к суровому наказанию.

Приводим другой пример, иллюстрирующий неоспоримую ценность этого метода исследования.

На чердаке были обнаружены трупы двух студенток К. и Р. Трупы лежали друг на друге. Тело Р. было полностью обнажено, с трупа К. сняты колготки. Причиной смерти обеих девушек послужили обширные разрушения черепа, причиненные тупым предметом. Как выяснилось при исследовании трупов, гр-ка Р. ранее

жила
ствен
не
морф
ден
мош
участ
позв
нали
логи
щест
помо
пров

кост
ния
кром
тро
вид
ная
аггл
веря
ной
нару
гидр
изол
Мет
ной

в на
неко
к се
луче
мож
топр
кров
ви и

жила половой жизнью, у гр-ки К. было свежее повреждение девственной плевы. Во влагалище трупов сперматозоиды обнаружены не были. При экспертизе одежды убитых эксперт ограничился морфологическим исследованием, при котором сперматозоиды найдены не были. Исследование же вещественных доказательств с помощью реакции агглютинации, поставленной с вытяжками из участков залитой кровью юбки, кофты, майки, принадлежащих Р., позволило выявить участки, в которых можно было предположить наличие спермы, что и было подтверждено последующим морфологическим исследованием. Таким образом, быстро и успешно осуществленное в условиях сложной экспертизы обнаружение спермы помогло пролить свет на мотивы и детали преступления, а также проверить показания обвиняемого.

Присутствие спермы животных, а также других жидкостей организма человека (слюна, моча, пот, выделения из носа, слезная жидкость, влагалищный секрет, кровь, гной) не влияет на реакцию агглютинации эритроцитов с использованием сока картофеля: склеивание видно отчетливо. Исключение представляет менструальная кровь, которая иногда тоже вызывает задержку агглютинации. Поэтому во всех случаях следует проверять картофельный реагент с заведомо менструальной кровью. Asano и соавторы (1971) предлагают обнаруживать менструальную кровь в пятнах по лактатдегидрогеназе, используя метод электрофореза для изолирования и количественного определения фермента. Метод этот пока находится в стадии экспериментальной разработки.

Весьма перспективными представляются проводимые в настоящее время исследования экстрактов из семян некоторых растений, принадлежащих главным образом к семейству бобовых (Л. О. Барсегянц и др., 1976). Полученные предварительные данные указывают на возможность дифференцировать посредством реакции фитопреципитации и фитагглютинации менструальную кровь от периферической, сперму от менструальной крови и женского молока.

ОБНАРУЖЕНИЕ СЛЮНЫ

В судебно-медицинской экспертизе встречаются случаи, когда судебно-следственные органы ставят вопрос о наличии на вещественных доказательствах слюны или, чаще, ее следов. Объектами экспертизы могут в таких случаях быть куски текстильных или трикотажных тканей или иные предметы, которыми преступник закрывал рот своей жертве, чтобы заглушить ее крик. Иногда в случаях удушения возникает вопрос о наличии слюны на одежде жертвы или на петле, которой сдавливалась шея. Носителями следов слюны, часто являющимися объектом исследования, служат окурки, обнаруживаемые на месте происшествия. Иногда наличие слюны приходится устанавливать на клапанах конвертов, эти экспертизы бывают связаны с получением тем или иным адресатом анонимных писем. При расследовании бытовых конфликтов может возникнуть необходимость проводить поиски слюны или ее следов в пище, продуктах, лекарстве и на различных предметах бытового обихода. Возможны и другие поводы для установления наличия слюны в связи с уголовными делами.

Особое криминалистическое и судебно-медицинское значение приобрело исследование слюны после обнаружения в ней групповых антигенов (Brahn et al., 1939). Это позволило ставить перед экспертизой вопрос о возможности (или исключении) принадлежности слюны определенному лицу. Таким образом, исследование слюны как вещественного доказательства и объекта экспертизы приобретает важное значение при расследовании уголовных дел.

Слюна представляет собой бесцветную вязкую жидкость. Она может быть прозрачной или мутноватой, что зависит от примеси в ней микроорганизмов, эпителиальных клеток, лейкоцитов, остатков пищи и др. Слюна является продуктом деятельности слюнных желез: око-

лоу
гоч
око
тал
и п
обл
име
вли
тра

рас
ные
сос
ами
раг
нин
нил
мен
лоч
наз
вар
таз
орг
0,1
кол
рок
сул
лий
дан
слю
выд
фиб
чит
tha
хро
ста
рок
тог
ны.
сос
рак
рта
дру
(пр

лоушных, подчелюстных и подъязычных, а также многочисленных железок слизистой оболочки рта. Секрет околоушной железы преимущественно серозный, а остальных — слизистый, богатый муцином. В разное время и при различных условиях в слюне человека может преобладать секрет той или иной железы. В норме слюна имеет слабощелочную реакцию, которая, однако, под влиянием различных условий может изменяться на нейтральную и кислую.

Химический состав слюны довольно сложен: в ней растворены многие органические вещества и минеральные соли. Основную массу органических компонентов составляют белки: муцин, глобулин, альбумин, а также аминокислоты: цистеин, лизин, гистидин, аргинин, аспарагиновая и глутаминовая кислоты, серин, глицин, треонин, аланин, пролеин, триптофан, метионин, валин, фенилаланин, лейцин и изолейцин. Слюна богата ферментами. Она содержит значительные количества щелочной фосфатазы, глутамино-аспарагиновой трансаминазы и альдолазы. Активной частью слюны как пищеварительного секрета служат амилаза (птиалин), мальтаза, оксидаза и некоторые другие ферменты. В число органических составных частей входят мочевины (около 0,1 г/л), виннокаменная и молочная кислоты, небольшое количество сахаров. Из солей содержатся хлориды, гидрокарбонаты щелочных металлов и кальция, фосфаты, сульфаты (следы), соли аммония, азотистокислый калий (образуется под влиянием микроорганизмов), роданистые соединения, причем последние содержатся в слюне в несколько большем по сравнению с другими выделениями количестве. В слюне содержатся также фибринолитические вещества. Их назначение — обеспечить проходимость протоков слюнных желез (Scherphthauer et al., 1973). А. М. Детинич (1966) обнаружил хром в слюне почти у 50% обследованных людей. Состав слюны непостоянен. Он может колебаться в широких пределах у разных людей, а также у одного и того же индивида. Причины таких колебаний различны. Может играть роль возраст, качество пищи, общее состояние здоровья, гигиена полости рта, наличие и характер протезов, патологические процессы в полости рта, желудке, печени, поджелудочной железе, почках, других органах. Некоторые лекарственные вещества (препараты йода, ртути) в течение длительного време-

ни после их приема выделяются со слюной. У курильщиков значительно увеличивается количество роданистых соединений. При кариесе зубов содержание сахара и молочной кислоты в слюне увеличивается вдвое, а концентрация некоторых микроэлементов: железа, меди, магния, цинка и свинца — уменьшается. Гипертоническая болезнь приводит к увеличению содержания в слюне почти всех аминокислот, при лучевой болезни и даже при обычном рентгеновском облучении снижается активность ферментов в ней, нарушается рН. Многие авторы отмечали, что зубные протезы изменяют содержание никеля, цинка, свинца, ртути. Состояние полости рта может отражаться на белковом составе слюны (А. А. Соленова, 1966). На состав слюны могут влиять и некоторые психогенные факторы. Так, известно выделение вязкой и скудной слюны при сильном психическом возбуждении и, наоборот, обилие жидкой водянистой слюны при виде пищи у голодного человека, а также под влиянием запаха и вида кислых плодов, ягод и др. Но и вне зависимости от этих моментов состав слюны изменяется в течение суток. В частности, слюна, взятая натошак, менее концентрирована, чем та, которая выделяется после еды.

Тем не менее в химическом составе слюны можно отметить присутствие более или менее постоянных компонентов. К числу их относятся роданистые соединения и фермент амилаза (птиалин), представляющие в связи с этим определенный интерес с точки зрения возможности обнаружения слюны.

Морфологический состав слюны не представляет ничего характерного и может изменяться под влиянием физиологических факторов и при ношении зубных протезов. В состав слюны входят микроорганизмы (дрожжевые грибы, кокки, сарцины, бактерии, зубная и щечная спирохеты), пищевые остатки, лейкоциты, клеточный детрит, кристаллы и аморфные сrostки, так называемые слюнные тельца, представляющие собой распадающиеся лейкоциты (вообще в слюне клеточные элементы быстро разрушаются). При воспалительных процессах в полости рта обнаруживаются мезенхимные клетки, гистиоциты, полибласты, клетки Унна и другие переходные формы, а также измененные эпителиальные клетки и лейкоциты. В результате заболеваний полости рта в ней могут появляться амебы и трихомонады, уве-

личивается количество бактерий молочнокислого брожения.

Суточное количество слюны, выделяемое человеком, около 1500 мл, сухой остаток ее составляет 0,5—1%. К старости секреция слюнных желез заметно снижается. Пятна слюны на вещественных доказательствах обычно имеют беловатый или желтоватый цвет, микроскопически они не представляют ничего характерного. На некоторых объектах при облучении ультрафиолетовым и видимым синим светом следы слюны флюоресцируют беловатым или голубоватым светом. Это явление можно использовать в судебно-медицинской экспертизе в качестве ориентировочной пробы при поисках малозаметных пятен, подозрительных на присутствие слюны (А. И. Миронов, Х. М. Тахо-Годи, 1957). Однако никакого доказательного значения флюоресцентный метод иметь не может, поскольку известно много веществ биологического происхождения, дающих такую же флюоресценцию. Но иногда слюна не флюоресцирует, особенно при наличии в ней загрязнений и примесей (например, крови). Поэтому естественно стремление экспертов иметь возможность обнаруживать слюну другими лабораторными методами. Поскольку морфологический метод не пригоден для этих целей, так как слюна не содержит каких-либо стабильных специфичных морфологических компонентов, исследователям пришлось обратиться к химическим методам.

Весьма заманчивым представлялось установить наличие слюны по роданистым соединениям. Во-первых, они содержатся в слюне в относительно большом количестве, а во-вторых, в аналитической химии разработаны простые, высокочувствительные и специфичные реакции на роданистые соли, в частности реакция с хлоратом окисного железа, при которой образуется роданистое железо, имеющее интенсивно красный цвет. Уже в 1910 г. эту реакцию использовал Н. С. Бокариус. На подозрительное пятно он наносил каплю раствора полуторахлористого железа, появляющееся при этом красное или розовое окрашивание свидетельствует о положительной реакции. Однако сам автор считает, что такой результат позволяет лишь подозревать наличие слюны. В недостоверности этого метода убеждает отсутствие в некоторых случаях роданистых солей в свежей слюне и образование их по мере «старения» слю-

ны (Е. В. Сапунова, 1955). Таким же способом пользовался Mueller (1928), однако он указал, что ни положительный, ни отрицательный результат реакции не являются абсолютно доказательными.

За последнее время предприняты попытки устанавливать наличие слюны с помощью серологических методов. Так, Furuu (1969) сумел получить иммунную противослюнную сыворотку, которая, однако, одинаково реагировала как со слюной, так и с соком поджелудочной железы человека. Этим обстоятельством, быть может, можно было бы и пренебречь, поскольку едва ли можно себе представить реальную необходимость дифференцировать слюну от секрета поджелудочной железы, однако сам факт неспецифичности реакции неизбежно настораживает и обязывает проявлять сдержанность при оценке достоверности метода.

Все это заставило искать другие более специфичные способы обнаружения слюны. При этом естественно обратили внимание на амилазу, которая является неотъемлемой составной частью слюны каждого человека и в значительно меньшем количестве содержится в других биологических объектах, в частности носовой слизи, кале и моче; в сперме и секрете влагалища амилаза не выявляется. Довольно значительное количество амилазы содержится в соке поджелудочной железы, однако она отличается от амилазы слюны как по электрофоретической активности, так и по иммунохимическим свойствам. Это придает ей особую криминалистическую и судебно-медицинскую ценность по сравнению с другими ферментами слюны — мальтазой, оксидазой, фосфатазой. Амилаза принадлежит к числу пищеварительных диастатических ферментов, которые расщепляют (гидролизуют) полисахариды, переводя их в удоборастворимые и легко всасываемые простые сахара: мальтозу, глюкозу и низкомолекулярные декстрины. Оптимальными условиями для активности амилазы являются 40—45°C и pH 6,1—7,0. Активность ее увеличивается в присутствии электролитов (например, поваренной соли). Амилаза растворима в воде, слабом солевом растворе, разведенном спирте. Она осаждается 96° спиртом, ацетоном, сернокислым аммонием. Некоторые амилазы получены в кристаллической форме.

Tesař (1970) считает, что из всех предложенных способов обнаружения слюны заслуживают внимания лишь

амилазная проба и реакция с трифенилтетразолхлоридом.

Различными авторами, главным образом биохимиками и клиницистами (последних интересовала преимущественно амилаза в соке поджелудочной железы), предложен ряд реакций; все они основаны на выявлении диастатической активности путем добавления к объекту раствора полисахарида (крахмала). Эти реакции можно разделить на две группы: первая сводится к обнаружению конечных продуктов гидролизного распада добавленного полисахарида (простых сахаров), вторая — к констатации сохраняемости или разрушения самого полисахарида.

Somogyi (1934—1935), расщепляя крахмал слюной, определял образующийся сахар, используя его способность восстанавливать металлическую медь из медного купороса в щелочной среде. Иначе говоря, он проводил общеизвестную реакцию Троммера. Однако эта проба, легко выполняемая при исследовании мочи, оказалась слишком громоздкой для исследования слюны. Она требует непременно повторных проверок, что в условиях судебно-медицинской экспертизы не всегда возможно осуществить, учитывая малое количество объекта. Некоторые авторы пытались заменять крахмал гликогеном или предлагали собственные модификации реакций для обнаружения конечных продуктов распада полисахарида.

Следует сказать, что многие способы определения продуктов расщепления полисахаридов сложны; кроме того, все они обладают существенным недостатком: неспецифичны для амилазы, а следовательно, и для слюны. Чтобы прийти к такому выводу, достаточно напомнить, что всеми этими методами по существу определяются лишь моносахариды, вернее их редуцирующие свойства. Если же учесть, как широко распространены простые сахара в объектах растительного и животного происхождения, и добавить к этому бесчисленное количество других редуцирующих веществ, которые имеются в природе, то становится очевидной неизбежность получения ошибочных результатов при использовании указанных методов, а отсюда и их неприемлемость для целей судебно-медицинской экспертизы.

В отличие от указанных способов методы, основанные на выявлении сохраняемости или разрушения поли-

сахарида амилазой слюны, оказываются менее сложными и в то же время обладают большей специфичностью.

Эти реакции основаны на способности нерасщепленного крахмала давать синее окрашивание с растворами металлического йода (так называемая йод-крахмальная реакция). Крахмал же, подвергшийся гидролизу под действием амилазы (птиалин), при добавлении йода не даст синей окраски, поскольку с продуктами его расщепления (простые сахара) такого окрашивания не возникает. Таким образом, добавляя к исследуемому объекту последовательно растворы крахмала и йода и наблюдая наличие или отсутствие синего окрашивания, можно судить о присутствии или отсутствии амилазы.

Использование этого метода в судебно-медицинских целях предложил Mueller (1928). Подозрительное пятно он заливал толуолом, к полученной вытяжке добавлял раствор крахмала и через несколько часов — раствор Люголя. Отсутствие посинения свидетельствует о наступившем гидролизе крахмала, а следовательно, о наличии амилазы, что позволяет делать вывод о происхождении пятна от слюны. Однако проведение этой реакции в том виде, как ее первоначально предложил автор, связано с определенными неудобствами. Длительность реакции составляет 12 ч, что не укладывается в продолжительность одного рабочего дня (6—7 ч) судебно-медицинского эксперта, иначе говоря, для выполнения реакции пришлось бы организовать двухсменную работу лаборатории.

Некоторые авторы предложили свои модификации данного метода. Так, например, Л. В. Белавин (1959) экстрагировал пятна слюны водным раствором крахмала в изотоническом растворе хлорида натрия с добавлением аскорбиновой кислоты, препятствующей загустеванию крахмала. При наличии амилазы вытяжки оставались бесцветными, в противном случае появлялось синее окрашивание. Метод этот в общем несложен и достаточно демонстративен, однако он оказался неспецифичным (по данным автора) для слюны, поскольку в ряде случаев положительный результат получался и с другими выделениями человеческого организма. Кроме того, аскорбиновая кислота может способствовать расщеплению крахмала даже такими малыми количествами амилазы, которые иногда содержатся и в других вы-

делениях помимо слюны (например, в моче при диабете).

Radam (1966) рекомендует экстрагировать пятна слюны раствором ацетата натрия.

В настоящее время в Советском Союзе широко внедрена в практику разработанная в 1961 г. Л. О. Барсегянц усовершенствованная методика обнаружения слюны (Методические указания Министерства здравоохранения СССР, 1975). Эта методика в принципе основана на реакции Мюллера, но лишена присущих последней недостатков. В частности, удалось повысить чувствительность реакции и обеспечить большие удобства для проведения исследования.

Техника исследования. Измельченные ножницами кусочки материала, вырезанные из пятна, подозрительного на слюну, и из расположенного вблизи него контрольного участка предмета-носителя, помещают в отдельные пробирки с незначительным избытком толуола и оставляют на 4 ч при комнатной температуре. Затем добавляют по 5 мл солевого раствора картофельного крахмала и ставят на 20—24 ч в термостат при $+37^{\circ}\text{C}$, после чего из каждой пробирки половину жидкости переносят в чистую пробирку и добавляют к ней по 1 капле раствора Люголя, разведенного дистиллированной водой в соотношении 1 : 3.

Если в объекте содержится достаточное количество амилазы, весь или почти весь крахмал расщепляется: мутный раствор становится прозрачным, а при взаимодействии с раствором Люголя синего окрашивания не происходит (наличие слюны доказано!). При отсутствии амилазы или очень малом ее количестве в исследуемом объекте раствор остается мутным и синее при добавлении раствора Люголя (слюна не обнаружена). Появление фиолетового окрашивания жидкости не дает оснований для выводов о наличии или отсутствии слюны.

Определение слюны всегда необходимо сопровождать постановкой контрольных опытов, в которых проверяют применяемые реактивы и исследуют такие же по массе кусочки, взятые из участков материала вещественного доказательства, расположенных в непосредственной близости к исследуемому пятну, а также проводят контрольное исследование с вытяжкой из пятна слюны.

Реакция на амилазу в модификации Л. О. Барсегянц весьма чувствительна, положительный результат

во многих случаях удастся получить с навесками материала 1—15 мг, если исследуют насыщенные пятна слюны давностью происхождения до 6 мес, и от 1 до 40 мг при многолетней давности происхождения пятна. Таким образом, для проведения реакции достаточно одной нити материала, в то время как в оригинальной прописи Mueller рекомендуется вырезать из материала с пятном участок площадью 1—4 см². Кроме того, предложенное Л. О. Барсегянц изменение продолжительности экстрагирования в термостате до 24 ч представляется более целесообразным с точки зрения организации работы в лаборатории: эксперт может поместить исследуемый объект в термостат в любое время и провести реакцию на следующий день в те же часы.

Результат зависит от количества слюны в пятне и содержания в ней амилазы (у разных людей оно неодинаково). Имеет некоторое значение и давность происхождения пятна, поскольку известно, что с течением времени активность амилазы падает, хотя и в незначительной степени. В связи с этим при экспертизе необходимо варьировать величину кусочков материала. Однако масса их не должна превышать 100 мг, так как при дальнейшем увеличении навесок полученный результат не может считаться достоверным, поскольку в кусочках, превышающих по массе 100 мг, амилаза обнаруживается и в следах других выделений, а также крови.

Различные заболевания, как общие, так и местные (в том числе болезни полости рта) не препятствуют обнаружению амилазы. Лекарственные средства, принимаемые по поводу этих заболеваний, не влияют на результаты реакции. Не препятствует выявлению слюны и употребление спиртных напитков и пива, даже если исследование производится сразу после приема алкоголя (Л. О. Барсегянц, 1971).

В очень редких случаях у некоторых лиц, страдающих диабетом, амилаза при указанных условиях с помощью этой реакции определяется и в моче. В связи с этим в случае положительной реакции на присутствие слюны в объектах, на которых не исключено и присутствие мочи, рекомендуется произвести исследование с целью определения мочи. Другие эндокринные заболевания и болезни, связанные с нарушением обмена веществ (подагра, гипертиреоз и т. п.), не влияют на определение слюны.

Крахмал, нанесенный на ткань в ходе фабричного изготовления (аппретура), не переходит в раствор при холодном экстрагировании, в результате чего он не препятствует определению слюны на нестиранной (новой) текстильной ткани.

Слюну в пятнах нередко можно обнаружить и в тех случаях, когда вещественное доказательство застирывали с применением моющих средств в течение не более 15—30 мин, проглаживали утюгом в течение 5—10 мин (Л. О. Барсегянц, 1970).

С помощью реакции на амилазу наличие слюны можно доказать даже в том случае, если слюна попала на пятно крови или кровь находится на ранее испачканном слюной участке вещественного доказательства.

Поскольку в других биологических объектах (сперма, моча, кровь и др.) амилаза содержится в значительно меньших количествах, чем в слюне, реакция при точном соблюдении техники исследования практически специфична для слюны и пригодна для судебно-медицинских целей.

Приготовление реактивов. 1. Солевой раствор крахмала. Изготавливают 2% раствор хлорида натрия (2 г соли на 98 мл дистиллированной воды); 2 г сухого картофельного крахмала в стеклянном сосуде смешивают с 25 мл 2% раствора хлорида натрия; остальной объем солевого раствора нагревают до кипения и в него вливают крахмальную взвесь, постоянно помешивая. Полученный раствор применяют в остуженном виде. Реактив готовят непосредственно перед применением (хранению не подлежит).

2. Раствор Люголя. 1 г кристаллического йода и 2 г йодида калия растворяют в 5—10 мл дистиллированной воды и добавляют дистиллированную воду до объема 100 мл. Раствор хранят в склянке из темного стекла. Перед применением его разводят дистиллированной водой 1 : 3.

Технику обнаружения слюны посредством реакции на амилазу иногда приходится варьировать в зависимости от характера исследуемого объекта.

Исследование конвертов и марок. В ультрафиолетовых лучах выявляют флюоресцирующие участки. Из этих участков (обычно это край клапана конверта) вырезают кусочки, в которых с помощью реакции на амилазу определяют присутствие слюны. Затем в этих же кусочках

определяют групповые антигены слюны. Для этой цели кусочки бумаги конверта отжимают на фильтровальной бумаге, мелко нарезают и исследуют с помощью реакции абсорбции. Mueller (1975) установил, что содержание групповых антигенов в слюне, нанесенной на клапаны конвертов, при ее высыхании быстро падает. Для определения категории выделения в пятнах слюны лучше всего пользоваться растительными агглютинами.

Слюну можно обнаружить и исследовать в ней групповые антигены в том случае, если ею смачивали конверт, на клапане которого нанесен клей, а также в том случае, если она смешана с другим веществом, служившим для заклеивания конверта.

Так, на экспертизу поступил порошкообразный соскоб пшеничной муки, которой был заклеен конверт. Для обнаружения в соскобе слюны 2 мг порошка залили толуолом с тем расчетом, чтобы жидкость покрывала все вещество, но не оставалась в избытке, и оставили на 4 ч при комнатной температуре. Затем добавили 2% раствор крахмала в 2% растворе хлорида натрия, смесь поместили в термостат на 22—23 ч, после чего произвели учет результатов реакции. Несмотря на то что пшеничная мука уже сама по себе содержит крахмал и в процессе исследования к ней был добавлен раствор крахмала, посинения после добавления раствора Люголя не наступило. Это с достоверностью говорит о том, что весь крахмал подвергся расщеплению птиалином, что позволило сделать категорический вывод о наличии слюны. Затем была определена групповая принадлежность данной слюны. Значение результатов этого вида экспертизы для следствия очевидно.

Следы слюны могут находиться и на почтовых марках. Однако с достоверностью судить о наличии или отсутствии слюны и о ее групповых антигенах в таких случаях едва ли возможно, так как слюной обычно смачивают всю или почти всю проклеенную поверхность марки, что лишает эксперта возможности выполнить одно из обязательных условий судебно-медицинского исследования вещественных доказательств: поставить контрольные опыты с материалом предмета-носителя, заведомо не содержащим слюны.

Экспериментально установлено, что чистая почтовая марка как предмет-носитель не препятствует обнаруже-

нию слюны и определению ее групповой принадлежности. В связи с этим эксперт, исследуя почтовые марки на наличие и групповую принадлежность слюны, хотя и не вправе дать категорическое заключение, однако может изложить в заключение результаты поставленных опытов и указать, что подобные данные получаются при наличии или отсутствии на вещественном доказательстве слюны определенной группы, а также оценить феномен выделительства. Вместе с тем он обязан указать, что категорическое заключение не может быть дано потому, что нельзя было проверить возможность влияния предмета-носителя на результат реакции.

Такое заключение может помочь следователю сузить круг поиска и направить его по наиболее вероятному пути обнаружения преступника.

ОБНАРУЖЕНИЕ СЛЮНЫ НА ПОСУДЕ, ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ДЛЯ ПИТЬЯ

В судебно-медицинской практике иногда приходится исследовать посуду, использованную для питья, на предмет обнаружения на ней слюны. Так, Сатегоп и соавторы (1972) сообщают об успешном определении группы слюны на чашке, из которой пили кофе, однако каких-либо данных о технике исследования и о способе определения наличия слюны они не приводят.

Для этой цели Л. О. Барсегянц (1975) разработала следующую методику. Кусочком марли размером 1×1 см, смоченным в изотоническом растворе хлорида натрия, тщательно протирают свободный край посуды (стакан, чашка и др.) снаружи и изнутри. Другим кусочком марли, также смоченным в изотоническом растворе хлорида натрия, протирают посуду в местах, отдаленных от верхнего края, где при рассматривании в ультрафиолетовом свете нет свечения. Кусочки марли (целиком) в отдельных химических пробирках исследуют на наличие слюны. Методика исследования обычная, за исключением того, что раствора крахмала берут только 2 мл, так как на посуде, как правило, остается очень небольшое количество слюны. После того как определяют слюну в кусочках марли, их отжимают на фильтровальной бумаге, мелко нарезают и проводят реакцию абсорбции агглютининов в количественной модификации в обычном варианте.

ОБНАРУЖЕНИЕ СЛЮНЫ НА ОСТАТКАХ ПИЩИ

Иногда на месте происшествия находят остатки пищи (хлебобулочные изделия, мясные и кисломолочные продукты, фрукты, овощи и др.), на которых можно предполагать присутствие слюны (например, в местах откусывания или там, где имеется след от ложки, которую до этого брали в рот). Прежде всего определяют влияние предмета-носителя на реакцию обнаружения слюны и на реакцию абсорбции. Если предмет-носитель не влияет на реакции, то в отдельные пробирки помещают часть объекта, где предполагается наличие слюны, и другую его часть (контроль), отдаленную от первой и взятую в таком же количестве.

В том случае, если сам предмет-носитель влияет на результаты реакции, поступают следующим образом. Марлевым тампоном размером 1×1 см, смоченным в изотоническом растворе хлорида натрия, осторожно (чтобы не захватить материал предмета-носителя) протирают ту часть объекта, где предполагается присутствие слюны. Другим тампоном, смоченным в изотоническом растворе, протирают объект в части, отдаленной от первой, где не наблюдается свечения при ультрафиолетовом облучении. Тампоны исследуют тем же способом, что и при выявлении слюны на посуде.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ НАЛИЧИЯ СЛЮНЫ НА ПАПИРОСАХ И «САМОКРУТКАХ»

Когда имеются окурки папирос или сигарет, устанавливать сам факт наличия слюны не требуется, а поскольку в этих случаях ясно, какой конец окурка находился во рту, легко найти участки, подлежащие исследованию на групповые антигены, а также сделать вырезки из бумаги, лишенные слюны. Однако в тех случаях, когда групповые антигены не определяют, а задача эксперта установить наличие или отсутствие слюны, навески, с которыми ранее ставили реакцию абсорбции, могут быть объединены, и с ними ставят реакцию на наличие слюны.

Сложнее обстоит дело с «самокрутками», когда нельзя заранее знать, какой участок содержит слюну, а какой может быть использован для контрольного исследования, поскольку в процессе сворачивания «самокрут-

ки» бумага смачивается слюной по всему краю. Для того чтобы найти эти участки, окурок осторожно разворачивают, тщательно рассматривают при люминесцентном облучении и из подозрительных участков вырезают кусочки, которые исследуют с помощью йод-крахмальной реакции. Одновременно проводят контрольное исследование других участков того же объекта. Таким путем удается точно отграничить участки, пропитанные слюной (что позволяет в дальнейшем определять в них группу реакцией абсорбции), а также найти участки, лишенные ее. После обнаружения слюны кусочки бумаги отжимают на фильтровальной бумаге, мелко нарезают и исследуют в реакции абсорбции.

С целью определения слюны следует использовать только картофельный крахмал, применяемый для приготовления пищи. Не рекомендуется использовать кукурузный, рисовый или химически чистый картофельный крахмал. Не следует пытаться повысить чувствительность реакции путем уменьшения объема крахмала (кроме частных случаев — см. установление слюны на посуде), так как при этом может быть выявлена амилаза, которая содержится не только в слюне, но и в других биологических жидкостях. То же относится к продолжительности пребывания объектов в термостате: оптимальный срок 20—24 ч и изменять его нельзя.

Приведем некоторые примеры практических экспертиз, при которых слюну обнаруживали с помощью йод-крахмальной реакции.

1. Труп гр-на М. висел в петле, сделанной из трех носовых платков, связанных вместе. Два платка принадлежали умершему, принадлежность третьего была неизвестна. На одном платке были обнаружены обширные следы слюны. Это позволило предположить, что платок составлял ту часть петли, которая была расположена ближе ко рту умершего. На втором платке небольшие участки, пропитанные слюной, были обнаружены лишь в некоторых местах, а на третьем слюна отсутствовала, но в отличие от первых двух имелись небольшие пятна пота. Следствие интересовало вопрос, принадлежали платки одному человеку или нескольким. Ответить на него было трудно, потому что группу крови гр-на М. до захоронения не определили. В пятнах слюны агглютиногены Н, А и В не были обнаружены (по-видимому, слюна принадлежала невыделителю). В следах пота был отчетливо выражен антиген Н, который мог являться основным агглютиногеном в группе Н(I) или сопутствующим в любой другой группе. Это дало возможность думать, что третьим в любой другой группе. Это дало возможность думать, что третьим носовым платком мог пользоваться человек, в состав групповой характеристики которого входит агглютиноген Н. Этот человек должен был быть еще и выделителем данного агглютиногена. Было выска-

зано предположение о групповой принадлежности слюны и пота, что дало возможность, хотя и предположительно, подойти к разрешению вопроса, поставленного следователем. Кусочки материала, взятые для обнаружения пятна слюны, были равны 2 мг.

2. На чердаке обнаружен труп гр-ки Р. со следами ударов на голове, нанесенных тупым предметом. На одежде был найден слабовыраженный след крови, в котором была обнаружена сперма. Возник вопрос о ее групповой принадлежности. У убитой оказалась вторая (Аβ) группа крови, а у подозреваемого — первая (0αβ). В пятне спермы, смешанной с кровью, были выявлены антигены А и Н, однако антиген А был выражен очень сильно, что не соответствовало слабовыраженному пятну крови. Можно было сделать два предположения: или сперма принадлежит человеку, имеющему группу А(II) с сопутствующим антигеном Н, т. е. преступление совершили два человека (задержанный преступник утверждал, что совершил убийство один), или в пятне крови и спермы присутствует еще какое-то выделение, вероятнее всего — слюна убитой (известно, что у выделителей антигены в слюне выражены сильнее, чем в крови). Навески пятна и контрольного участка предмета-носителя, ранее абсорбированные сыворотками α и β, использовали для установления наличия слюны. Для этого навески 50 мг пятна (после абсорбции с сыворотками α и β) помещали в одну пробирку. Так же поступали с двумя контрольными участками предмета-носителя, которые помещали в другую пробирку. Объекты заливали толуолом и определяли слюну вышеуказанным методом. Реакция на птиалин оказалась положительной.

Таким образом, удалось выяснить, что антиген в пятне произошел из слюны убитой, и версия, о втором преступнике отпала. Обращает на себя внимание то обстоятельство, что слюна была обнаружена в пятнах, несмотря на то что предварительно они подверглись длительному воздействию сывороток α и β.

ИССЛЕДОВАНИЕ МОЧИ

В судебно-медицинской практике иногда встречается необходимость установить наличие и групповую принадлежность мочи. Объектом экспертизы может служить как жидкость, в которой подозревают наличие мочи, так и следы мочи, оставленные на вещественных доказательствах. Интерес к подобным экспертизам особенно возрос после того, как в 1929 г. Brahn и соавторы, в 1930 г. Thomsen и в 1934 г. Freudenberg и соавторы доказали присутствие в моче агглютининов. Это имеет большое значение для судебно-медицинской практики, так как позволяет экспертам в ряде случаев высказаться о возможности или невозможности принадлежности мочи тому или иному лицу.

Поводы для исследования мочи могут быть различными. Пятна ее часто имеются на одежде, направляемой на экспертизу по делам о половых преступлениях. В таких случаях необходимо уметь их обнаруживать, для того чтобы судить о влиянии групповых антигенов, содержащихся в моче потерпевшей, на результаты исследования пятен спермы и на оценку результатов исследования. Выявление следов мочи на найденных где-либо предметах одежды может помочь установить, кому она принадлежала.

Иногда преступник умышленно оставляет на месте преступления следы своей мочи, руководствуясь распространенным в преступном мире поверьем, будто таким путем удастся затруднить розыскные действия.

В судебной практике могут встречаться также случаи, когда при бытовых конфликтах возникает необходимость искать мочу в пище, в кухонной и столовой посуде и на других предметах домашнего обихода. Кроме того, следы мочи используют в судебно-медицинской практике для установления беременности.

В состав мочи входят как неорганические, так и органические вещества, поэтому все предложенные качественные реакции основаны на химическом или физическом обнаружении того или иного ее компонента. К числу постоянно присутствующих неорганических веществ относятся соли натрия, калия, аммония, кальция, магния, хлора, сульфаты, фосфаты. Следует отметить, что указанные элементы широко распространены в природе и поэтому использовать их для обнаружения мочи затруднительно. Правда, за последнее время в связи с развитием эмиссионного спектрального анализа предпринимаются попытки основывать выводы при судебно-медицинском исследовании на результатах микро- и макроэлементного анализа, однако этот метод применим далеко не во всех случаях. Основным препятствием служат значительные колебания в химическом составе мочи, зависящие от ряда факторов: возраста (И. В. Давыдовский, 1966), характера принятой пищи, состояния здоровья, внешних воздействий на организм, индивидуальных особенностей и др. В этом отношении имеет значение даже время суток; так, например, калия и натрия с мочой в дневное время выделяется больше, чем ночью.

В моче содержатся также роданистые соединения: у некурящих в среднем 4,5 мг/л, у курящих от 16,3 до 30 мг/л в зависимости от интенсивности курения (Yasoub et al., 1970).

Из постоянных органических составных частей наибольший интерес с точки зрения использования в целях экспертизы представляют мочевины (количество ее составляет 2—3%) и креатинин. Меньшее значение имеет мочева кислота, соли серносинеродистой и роданистоводородной кислот, поскольку они присутствуют в очень малых количествах (иногда меньшие, чем в других выделениях). Моча в норме довольно бедна морфологическими элементами. Обнаруживаются они в свежей жидкой моче и поэтому не могут быть использованы как идентификационный признак при судебно-медицинской экспертизе пятен. Кроме того, из клинической практики известно, насколько сильно изменяется морфологическая картина мочи при различных заболеваниях.

Пятна мочи флюоресцируют синеголубым цветом при ультрафиолетовом облучении; при освещении видимым синим светом они представляются более светлыми, чем фон белого предмета-носителя.

мо
ше
(в
до
ра
дя
ста
на
все
да

моч
пом
миа
нит
поч
Т
акци
твор
дейс
цвет
йоди
зала
ную
при
1957
В
явля
ным
О
зы в
помо
этот
поло
ществ
Та
по-ме
вины
женн
сами
бодна
Кроме
образ
5*

Предпринимались попытки обнаруживать мочу по мочеvine, поскольку она содержится в моче в наибольшем количестве по сравнению с другими компонентами (в течение суток взрослый человек выделяет с мочой до 35 г мочевины). Balthazard (1935) предложил экстрагировать подозрительные пятна ксантгидролом с ледяной уксусной кислотой. Под микроскопом при этом становятся видны кристаллы ксантилмочевины, похожие на кисточки. Однако реакция эта недостоверна: она не всегда дает положительный результат даже тогда, когда пятна заведомо произошли от мочи.

Были также предприняты попытки обнаруживать мочеvinу, расщепляя ее до аммиака и углекислоты с помощью фермента уреазы (Bogusz et al., 1972). Аммиак обнаруживали с помощью бумажки, пропитанной нитратом серебра: восстановленное серебро вызывало почернение бумаги.

Thoma и соавторы (1953) модифицировали эту реакцию, обрабатывая бумагу вместо серебра смесью растворов йодида калия, натронной щелочи и сулемы. Под действием аммиака бумага приобретает коричневый цвет вследствие образования окрашенного аммонийно-йодидно-ртутного комплекса. Однако реакция эта оказалась неспецифичной для мочевины, тем более что черную окраску серебра дает и сероводород, образующийся при гниении органических веществ (Schmitz von Hülst, 1957).

Bogusz и соавторы (1972) тоже рекомендовали выявлять мочу в пятнах по мочеvine, определяя ее уреазным методом.

О. И. Ухачева (1962) предложила с помощью уреазы выявлять не аммиак, а лишь свободную щелочь (с помощью индикатора фенолфталеина). Естественно, что этот способ абсолютно не обладает специфичностью — положительный результат будет получен с любым веществом, имеющим щелочную реакцию.

Таким образом, совершенно очевидно, что в судебно-медицинской практике устанавливать наличие мочевины по продуктам ее расщепления нельзя. Предложенные реакции оказались неспецифичными, поскольку сами продукты расщепления мочевины (аммиак, свободная щелочь) широко распространены в природе. Кроме того, следует иметь в виду, что мочеvinа может образоваться вне организма в жидкостях немочево-

го происхождения, например в крови (Brys et al., 1967).

Более успешными оказались попытки обнаруживать мочевины с помощью хроматографии как на бумаге, так и в крахмальном геле (Hübner et al., 1952). Однако практическое применение этого метода связано с серьезными затруднениями: он весьма кропотлив, требует применения дефицитных реактивов (например, п-диметил-аминобензальдегид).

Вообще диагностическое значение обнаружения мочевины невелико. Помимо мочи, она содержится в крови, поте, а также в некоторых растениях. В моче количество ее может резко снижаться при некоторых заболеваниях, приеме лекарств, употреблении пищи, бедной белками. В жидкой моче мочевина разрушается при хранении в течение 1 мес, а при воздействии тепла еще быстрее. Даже в пятнах она разлагается уже через 6 мес (О. И. Ухачева, 1962). Таким образом, обнаружение мочевины не является достоверным признаком наличия мочи, а необнаружение не говорит против присутствия ее. Все это заставило исследователей искать другие способы определения мочи. При этом обратили внимание на креатинин. Он содержится в нормальной моче в довольно значительном количестве (около 0,1%), в то время как в плазме крови количество его составляет лишь 0,15 г/л; в поте — 0,03 г/л. Человек за сутки выделяет с мочой около 1000—1500 мг креатинина, причем выделение повышается при увеличении интенсивности обмена веществ (например, при базедовой болезни) и понижается при недостаточности почек, атрофии мышц и др. При любых условиях креатинин можно рассматривать как специфическую составную часть мочи.

В Советском Союзе судебно-медицинские лаборатории повсеместно используют методику обнаружения мочи по креатинину, разработанную в 1962 г. Л. О. Барсегянц (Методические указания об установлении наличия и групповой принадлежности слюны, наличия мочи и спермы. Министерство здравоохранения СССР. М., 1975). В основу ее положено сочетание двух цветных реакций — образование изонитрозокреатинина (Weyl) и перевод его в берлинскую лазурь (Salkowski).

Прежде чем проводить эти реакции, пятна обрабатывают толуолом с тем, чтобы препятствовать переходу в вытяжку красителей и окрашенных загрязнений.

Техника реакции. Измельченные ножницами кусочки материала, вырезанные из области пятна, подозрительного на мочу, и из расположенного вблизи него участка предмета-носителя, помещают в отдельные пробирки и добавляют толуол в таком объеме, чтобы объекты были полностью погружены в него. Через 5 мин толуол отсасывают пастеровскими пипетками, а к исследуемому материалу добавляют 2% раствор уксусной кислоты или 4% раствор трихлоруксусной кислоты (кислота должна смочить объект и остаться в незначительном избытке). Содержимое пробирок нагревают в течение 3 мин над пламенем горелки с небольшими перерывами, не доводя до кипения. Во время нагревания с целью лучшего экстрагирования периодически отжимают материал в пробирке стеклянной палочкой. После нагревания жидкость из каждой пробирки переносят в чистые пробирки, охлаждают до комнатной температуры и добавляют 6 капель 10% раствора едкого натра (доводя pH до 10,0—11,0 по универсальному индикатору) и 10 капель 1% водного раствора нитропруссид натрия. Когда получающееся при этом красное или оранжевое окрашивание (образование изонитрозокреатинина) перейдет в желтое, добавляют 10 капель ледяной уксусной кислоты и кипятят в течение приблизительно 10 мин с небольшими перерывами. Если синее-зеленое окрашивание (образование берлинской лазури) появляется ранее чем через 10 мин, кипячение прекращают.

Сине-зеленый цвет экстракта из пятна и отсутствие окрашивания экстракта, полученного из контрольного участка предмета-носителя, свидетельствуют о наличии мочи. Если синее-зеленого окрашивания не происходит (берлинская лазурь не образуется), следует считать, что моча в пятне не обнаружена. В судебно-медицинской практике нельзя ограничиваться только получением изонитрозокреатинина, так как красное или оранжевое окрашивание очень быстро переходит в желтое, а желтый цвет присущ как реагенту — раствору изонитрозокреатинина, так и самой моче. Все исследование продолжается около 20 мин.

Установление присутствия мочи в пятнах всегда должно сопровождаться контрольным исследованием таких же по весу кусочков не только материала вещественного доказательства из участка, расположенного в

непосредственной близости от пятна, но и из заведомого пятна мочи.

Реакция весьма чувствительна; она позволяет обнаруживать креатинин в 0,003—0,05 мл жидкой моче (содержание креатинина у разных людей несколько варьирует). По экспериментальным данным, положительный результат можно получить с кусочками материала массой от 1 до 15 мг, вырезанными из пятен мочи давностью происхождения от 2 до 5 сут. По мере старения пятен требуется некоторое увеличение количества исследуемого материала (до 43 мг при многолетней давности происхождения пятна).

Учитывая, что исход реакции на креатинин зависит не только от давности происхождения пятен, но и от количества в них мочи, в процессе каждой экспертизы следует варьировать величину навесок материала.

Все реактивы должны быть предварительно проверены с заведомыми пятнами мочи. Для правильного проведения второго этапа реакции важно, чтобы уксусная кислота и раствор щелочи хранились в надлежащих условиях, в герметичной упаковке. Раствор нитропрусида натрия следует хранить в посуде из темного стекла, при длительном хранении он разлагается.

Наличие мочи может быть доказано реакцией на креатинин даже тогда, когда моча попала на пятно крови или когда кровь находится на испачканном мочой материале вещественного доказательства. В таких случаях в реакцию обязательно следует вводить не 2% раствор уксусной кислоты, а 4% раствор трихлоруксусной кислоты, препятствующей переходу в жидкость красящего вещества крови.

Обнаружению мочи в пятнах не препятствуют ни местные, ни общие заболевания (в том числе урологические) у лиц, которым принадлежит моча, ни прием разнообразных медикаментов или употребление спиртных напитков и пива (Л. О. Барсегянц, 1971).

Мочу не удастся обнаружить в пятнах, подвергшихся вымачиванию в растворе какого-либо моющего средства или в чистой воде хотя бы в течение 3 мин. Проглаживание пятен сильно нагретым утюгом, производимое в течение 1 ч (с перерывами), почти не препятствует обнаружению мочи (Л. О. Барсегянц). Обнаружить мочу можно даже при исследовании загнившего материала.

УСТАНОВЛЕНИЕ НАЛИЧИЯ МОЧИ В СЫПУЧИХ И ЖИДКИХ ОБЪЕКТАХ

Иногда на экспертизу поступают земля, песок и др., в которых предполагается наличие мочи. Объект разделяют на несколько порций, каждую из которых заливают толуолом для удаления примесей, затем проводят первую фазу реакции (получение изонитрозокреатинина), во время нагревания с уксусной или трихлоруксусной кислотой объект тщательно перемешивают для улучшения экстрагирования. После этого жидкость из всех порций объединяют в одном сосуде, упаривают на медленном огне (для увеличения концентрации креатинина) и проводят реакцию образования берлинской лазури.

При исследовании жидкой мочи к 1 капле ее добавляют 2 капли 2% раствора едкого натра и 3 капли 1% водного раствора нитропруссиды натрия. Получается оранжево-красное окрашивание, свидетельствующее об образовании изонитрозокреатинина. Это окрашивание быстро переходит в желтое. Добавляют 3 капли ледяной уксусной кислоты и кипятят в течение 1½—5 мин с небольшими перерывами, при этом появляется зеленовато-синее окрашивание, свидетельствующее о положительном результате реакции.

Если на экспертизу поступает жидкость (чай, суп и др.), в которой подозревают примесь мочи, часть жидкости для увеличения концентрации упаривают на медленном огне под тягой и проводят реакцию на креатинин. Можно не опасаться разрушения креатинина, так как он достаточно устойчив к термическим воздействиям.

Хотя креатинин содержится не только в моче, но также в крови и других выделениях, однако в моче его значительно больше, поэтому реакция при соблюдении указанной техники исследования (навески, качество реактивов, контрольные опыты) практически специфична для мочи и пригодна для судебно-медицинских целей (с пятнами других выделений и крови образование берлинской лазури не происходит даже при исследовании навесок материала, равных 500 мг).

М. В. Кисин (1974) предлагает обнаруживать мочу методом хроматографии в тонком слое, используя в качестве сорбента водный раствор кремневой кислоты.

Растворителем служит смесь метанолуксусная кислота — вода (4 : 1 : 2). Таким путем выявляются креатинин и мочевины. Креатинин проявляют парами йода, мочевины — н-диметиламинобензальдегидом. По данным автора, реакция специфична, чувствительность ее $5 \cdot 10^{-5}$ мл мочи. Мочу этим методом удавалось обнаруживать в пятнах, имеющих давность происхождения до 7 лет, а также при наличии примеси крови. При наличии гноя креатинин и мочевины с помощью данного метода не обнаруживались.

Для обнаружения мочи в жидком виде и в пятнах Прокоп и соавторы (1975) рекомендуют использовать метод одновременного выявления мочевины и креатинина с помощью хроматографии в тонком слое силикагеля, предложенный Gibb и соавторами в 1966 г. Носителем служит смесь н-бутанол-ледяная уксусная кислота — вода (4 : 1 : 1). Время пробега 10 см дорожки — 70—80 мин. Проявляют $\frac{2}{3}$ длины пластинки раствором солянокислого н-диметиламинобензальдегида и $\frac{1}{3}$ длины — 5% спиртовым раствором пикриновой кислоты и 10% раствором натронной щелочи. Креатинин выявляется в виде оранжевого пятна с R_f 0,19, а мочевины образует ярко-желтое пятно с R_f 0,5. Чувствительность реакции 0,5 мкг креатинина и 0,3 мкг мочевины. В качестве предметов-носителей проверены различные текстильные ткани, картон, кожа, дерево и линолеум. Однако реакция эта едва ли пригодна для повседневной экспертной практики, поскольку авторы сами указывают, что она удавалась им с пятнами мочи, имевшими давность происхождения не более 10 сут.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ БЕРЕМЕННОСТИ ПО СЛЕДАМ МОЧИ

В следственной и судебно-медицинской практике иногда возникает необходимость выяснить, не принадлежат ли следы мочи, обнаруженные на вещественных доказательствах, беременной женщине. Такой вопрос может возникнуть, например, в связи с делами о криминальных аборт, возможны и другие поводы.

Делались попытки использовать для этой цели реакцию Ашгейм — Цондека, применяемую в клинической практике. Реакция основана на выявлении пролана — гормона передней доли гипофиза. Этот гормон содержится в моче при беременности. Будучи введен непо-

ловозрелым самкам белых крыс в возрасте 3—4 нед, он вызывает у них преждевременное развитие половых органов. Реакция эта не нашла применения в судебно-медицинской практике: она достаточно громоздка, требует содержания лабораторных животных и специального отбора среди них неполовозрелых самок, продолжительность реакции составляет 6 сут и более. Столь же неудобными оказались и другие биологические пробы — Фридмана (на кроликах) и Галли — Майнини (на лягушках).

В связи с этим в ходе дальнейших поисков были предприняты попытки использовать другой гормональный компонент — хорионгонадотропин, вырабатываемый ворсинками плодной оболочки (а впоследствии плаценты). Этот гормон постоянно присутствует в крови и моче беременных женщин. Данное обстоятельство в настоящее время используется в акушерской практике для диагностики беременности.

Хорионгонадотропный гормон (ХГГ) является гликопротеидом. Он содержится в моче на протяжении всей беременности, начиная с 5—9-го дня, в концентрации 2500—100 000 МЕ. Наибольшее содержание этого гормона (до 100 000 МЕ) приходится на 6—12-ю и на 30—36-ю недели беременности. Вскоре после родов или аборта ХГГ исчезает. Случаи неспецифического его присутствия в моче очень редки: у мужчин и у женщин при климаксе, опухолях генитальной сферы, при проведении гормональной терапии, а также при пузырном заносе.

В нашей стране вопрос о диагностике беременности по наличию ХГГ в жидкой моче и ее пятнах применительно к задачам судебно-медицинской экспертизы изучала Л. И. Баринова (1971, 1974, 1975). Ею разработана соответствующая методика применения для этой цели отечественного диагностического препарата гравидодиагностикума (ГД), широко используемого в акушерской практике. В основу метода положено явление задержки агглютинации эритроцитов барана, сенсibilизированных ХГГ по отношению к сыворотке кролика, иммунизированного этим гормоном. Препарат выпускается вместе с готовым набором реактивов.

Техника реакции следующая. Прежде всего убеждаются, что пятно произошло от мочи. Далее проводят исследование на присутствие в пятне белоксодержащих

жидкостей (кровь, секрет влагалища и др.). Белок обнаруживают общепринятой пробой с азотной кислотой. При малом количестве белка осадок на границе азотной кислоты и вытяжки появляется через 2—3 мин, в таких случаях можно беспрепятственно проводить реакцию с ГД. При больших количествах белка его надо удалить путем обработки ацетоном, переводя высокомолекулярные белки в нерастворимый осадок, не оказывающий блокирующего действия на эритроциты. Для этого в центрифужную пробирку помещают 0,5 мл вытяжки из пятна, добавляют двойной объем ацетона, перемешивают и оставляют при 2—8°C на 4 ч. Центрифугируют в течение 15 мин при 2500—3500 об/мин, надосадочную жидкость сливают через край пробирки, к осадку добавляют по 2 мл 96° этанола, тщательно перемешивают стеклянной палочкой, центрифугируют при тех же условиях, и этанол сливают. Затем аналогичным образом осадок промывают медицинским эфиром. Если частицы осадка пристали к внутренней стенке пробирки выше уровня реагентов, их смещают стеклянной палочкой в раствор, что предотвращает потерю материала. Пробирки с осадком выдерживают в течение 1 сут при 37°C.

После этого ГД проверяют на активность и специфичность. Проверку проводят на пластмассовых пластинках со сферическими лунками или в пробирках с таким же дном.

В ампулы, содержащие лиофильно высушенные агглютинат и ХГГ, добавляют по 1 мл буферного раствора, прилагаемого к препарату.

Для определения активности ГД его титруют в кратных разведениях до 1:64. Для этого во все лунки (кроме первой) вносят по 0,5 мл буферного раствора, а в первую и вторую лунки — по 0,5 мл растворенного гормона. Титруют одномиллиметровой пипеткой, градуированной по 0,01 мл, последовательно перенося по 0,5 мл смеси гормона и буфера. Из последней лунки после смешивания удаляют 0,5 мл жидкости.

Для определения специфичности ГД в одну лунку вносят 0,5 мл буферного раствора, в другую — 0,5 мл мочи небеременной женщины, разведенной в 5 раз буферным раствором. Затем в каждую лунку добавляют по 0,1 мл агглютинированной суспензии эритроцитов. Смесь перемешивают путем встряхивания пластинки по

горизонтали. Пластинку покрывают стеклом (пробирки не закупоривают) и оставляют на ночь при 2—25°C, оберегая от вибрации. На протяжении всего опыта и в период учета нельзя трогать пластинку или пользоваться электрохолодильником (вибрация!).

Результаты учитывают невооруженным глазом, рассматривая сверху дно лунки. Пробирки целесообразно ставить в штативы с отверстиями и в нижней планке, но несколько меньше диаметра пробирок. Штатив устанавливают над зеркалом, в котором четко видны результаты реакции.

При положительном результате реакции задержки антитела против ХГГ инактивируются им и не воздействуют на эритроциты, сенсibilизированные гормоном. В результате на дне лунки или пробирки выпадает осадок в виде кольца. При отрицательном результате неинактивированные антитела воздействуют на эритроциты, причем последние равномерно распределяются по дну (рис. 1).

Серию ГД считают годной, если задержка отмечена не менее чем в первых пяти лунках (пробирках). ГД считается специфичным, если он не дает задержки агглютинации с мочой небеременной женщины и с буферным раствором.

Проверив ГД, приступают к исследованию вещественного доказательства. Исследуют испытуемое пятно. Одновременно в качестве контроля исследуют ХГГ из ампулы комплекта, по одному образцу пятна мочи от женщины с нормальной беременностью со сроком более 1 мес и небеременной, а также предмет-носитель. Измельченные навески по 100 мг из пятен и из предмета-носителя помещают в пробирки, добавляют по 0,6 мл буферного раствора и оставляют на ночь при 2—8°C. Количественные соотношения между массой навесок пятен и буферным раствором нельзя изменять, так как при уменьшении навески можно не выявить малые концентрации ХГГ, а при увеличении объема буферного раствора — получить ложноположительную реакцию с лютеинизирующим гормоном, который постоянно присутствует в нормальной моче.

Затем вытяжки отсасывают, центрифугируют и разводят. Для этого отмеряют буферный раствор: в первую лунку 0,8 мл, а в две последующие по 0,5 мл. В первую лунку вносят 0,2 мл отцентрифугированной

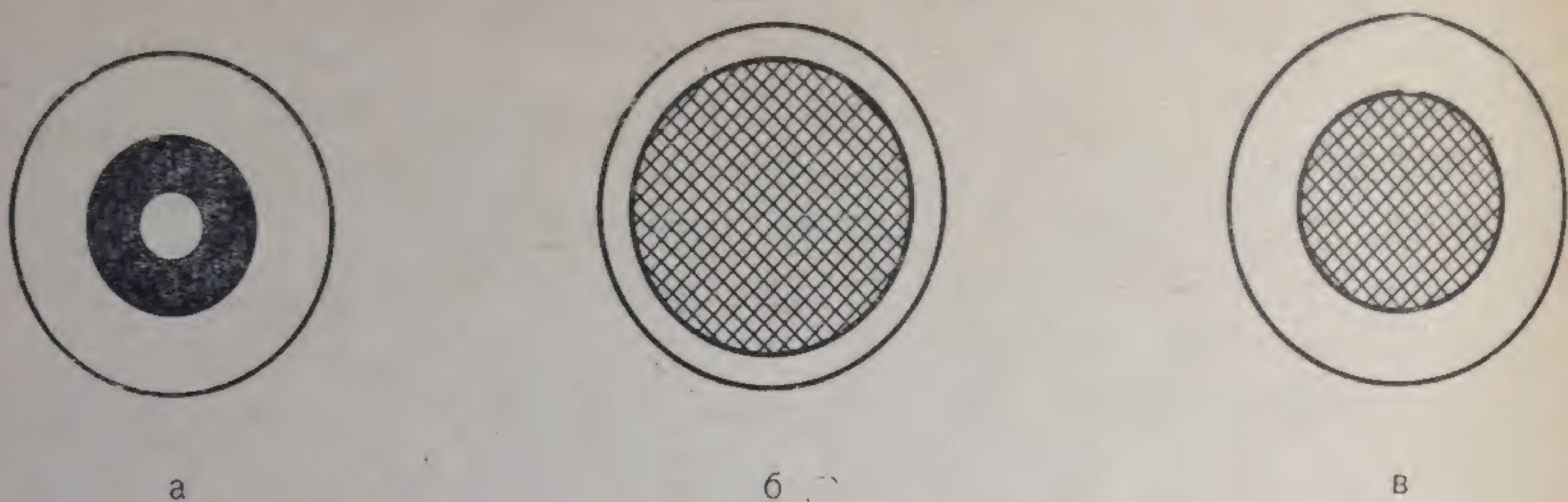


Рис. 1. Реакция на хорионгонадотропин.

Результат реакции: а — положительный; б — отрицательный; в — сомнительный.

вытяжки из пятна мочи, перемешивают; 0,5 мл смеси переносят в следующую лунку, снова перемешивают и 0,5 мл переносят в третью лунку. После перемешивания из третьей лунки удаляют 0,5 мл. Таким образом получают разведения вытяжки 1 : 5, 1 : 10, 1 : 20.

При малом количестве объекта можно ограничиться навесками материала 50 и 25 мг. Для этого к 50 мг объекта добавляют 1,5 мл буферного раствора (при 25 мг добавляют 0,75 мл раствора). Вытяжку после экстрагирования отсасывают, центрифугируют и 0,5 мл ее, не разбавляя, употребляют для реакции (такой способ экстрагирования не изменяет концентрации вытяжки). Оставшуюся часть вытяжки используют для приготовления разведений 1 : 10, 1 : 20.

Дальнейшее проведение реакции и учет результатов те же, что при проверке ГД.

Хорионгонадотропный гормон можно обнаружить в объектах исследования при содержании его в количестве 2500—5000 МЕ, которое имеется в моче уже в течение первого месяца беременности. В последующие сроки беременности количество гормона увеличивается, в связи с чем возрастает возможность его обнаружения в пятнах.

Результат реакции зависит от концентрации гормона, воздействия тех или иных факторов на пятно и давности его происхождения. На специфичность реакции не влияют нормальный влагалищный секрет, присутствие пота. При оценке полученных результатов следует иметь в виду, что отрицательный результат реакции с пятнами мочи не может расцениваться как безусловное доказательство полного отсутствия ХГГ. В таком

случае эксперт отмечает в заключении отрицательный исход реакции, не исключая предположения, что объект исследования принадлежит беременной женщине.

В зависимости от обстоятельств дела, особенностей экспертного материала и условий исследования надо пояснить, какие обстоятельства в данном случае наиболее вероятно могли сыграть роль в снижении активности гормона ниже порога чувствительности реакции.

Обнаружение ХГГ в пятнах мочи дает основание прийти к выводу, что объект исследования принадлежит беременной женщине, если исключена возможность, что пятна мочи оставлены не беременной, но больной или пожилой женщиной или пожилым либо больным мужчиной.

Указанная методика внедрена в практику методическими рекомендациями Министерства здравоохранения СССР об установлении принадлежности крови, выделений и органов беременной женщины (1977).

У беременной женщины ХГГ, помимо мочи, содержится в крови, во влагалищных выделениях и молозиве.

Г. А. Бабенко и соавторы (1974) предлагают по пятнам мочи определять наличие беременности с помощью иммунологической реакции с препаратом гравимун (производство ГДР). Большим недостатком данной методики является необходимость пользоваться импортным препаратом.

П. Е. Шиков и соавторы (1976) подтверждают высокую чувствительность и специфичность препарата ГД. Хорионгонадотропин выявлялся, начиная с 5—9-го дня задержки очередной менструации, вызванной беременностью, в течение 3—6 сут после аборта и в течение 1—3 сут после родов. Подтверждена большая стойкость гормона по отношению к внешним воздействиям.

ОБНАРУЖЕНИЕ ПОТА И ДРУГИХ ЖИДКОСТЕЙ ОРГАНИЗМА

ОБНАРУЖЕНИЕ ПОТА

Следы пота сравнительно недавно стали объектом судебно-медицинской экспертизы. Толчком в этом отношении послужили обстоятельные работы Yosida (1928) и Putkonen (1930), посвященные обнаружению групповых веществ в выделениях человеческого организма. Возникла реальная возможность установить происхождение следов пота на вещественных доказательствах от определенного лица.

Поводом для судебно-медицинского исследования следов пота могут быть различные причины, связанные, как правило, с уголовными преступлениями.

Известно, что нередко преступник, совершивший ограбление квартиры, магазина, склада или разбойное нападение, надевает на себя похищенную одежду, оставляя на месте преступления собственные носильные вещи. В таких случаях по следам пота на оставленных предметах можно сделать вывод о групповой принадлежности и категории выделительства их владельца. Эти данные могут помочь следователю изобличить грабителя или, наоборот, исключить того или иного подозреваемого. Бывает и так, что у подозреваемого находят ношенные предметы одежды, в отношении которых можно предполагать, что они были похищены. Разрешение вопроса особенно затрудняется, когда изъятые вещи представляют собой стандартные предметы массового производства, лишенные каких-либо индивидуальных признаков (метки, следы ремонта и др.). В таких случаях большую помощь могут оказать результаты исследования следов пота, сопоставленные с групповой принадлежностью предполагаемого прежнего владельца вещей. Возможны и другие поводы для исследования следов пота.

Основную массу пота составляет секрет потовых желез, который образуется в результате пропотевания

жидкости и растворенных в ней веществ из плазмы крови. Потовые железы распределены неравномерно: гуще всего на лице, ладонях, подошвах, подмышечных впадинах и в области промежности. Кроме секрета потовых желез, в состав пота входят выделения апокринных желез, расположенных главным образом в подмышечных впадинах и в небольшом числе вокруг сосков, в области промежности, в паховых складках. И, наконец, пот содержит значительную примесь кожного сала — продукта сальных желез. Эти железы имеются почти всюду в кожных покровах, исключение представляют ладони, подошвы, головка полового члена, соски и еще некоторые небольшие участки кожи.

Количество пота, выделяемого человеком, может достигать до 4 г за 1 ч (С. М. Рапопорт, 1966). Оно колеблется в зависимости от функционального состояния организма, термических и психических воздействий (волнение, испуг), приема лекарственных средств (пилокарпин), заболеваний и др.

Обычно пот представляет собой бесцветную жидкость, однако при развитии некоторых микроорганизмов он может приобретать различную окраску. В редких случаях наблюдается красное окрашивание пота гемоглобином вследствие повышенной проницаемости капилляров (И. А. Макеев и др., 1947). Пятна пота на белых тканях при достаточной интенсивности пропитывания выделяются желтоватым цветом; на окрашенных тканях они не видны, однако на участках одежды, подвергающихся постоянному интенсивному пропитыванию потом (например, в области подмышек), нередко происходит обесцвечивание или стойкое изменение цвета ткани.

Реакция пота колеблется от слабокислой до щелочной, удельный вес от 1,001 до 1,01. Состав пота сложен и непостоянен, он подвержен колебаниям в зависимости от различных эндо- и экзогенных факторов. Больше всего в поте содержится воды (97—99%), в которой находятся натрий, калий, кальций, магний, медь, марганец, железо в виде хлоридов, йодидов, фосфатов и сульфатов. Из органических веществ содержатся: белок (следы), липиды, мочевины, креатин, креатинин, мочевая кислота, ароматические кислоты, холестерин, сахар и продукты его преобразования. Содержатся также роданистые соединения. Концентрация их у некуря-

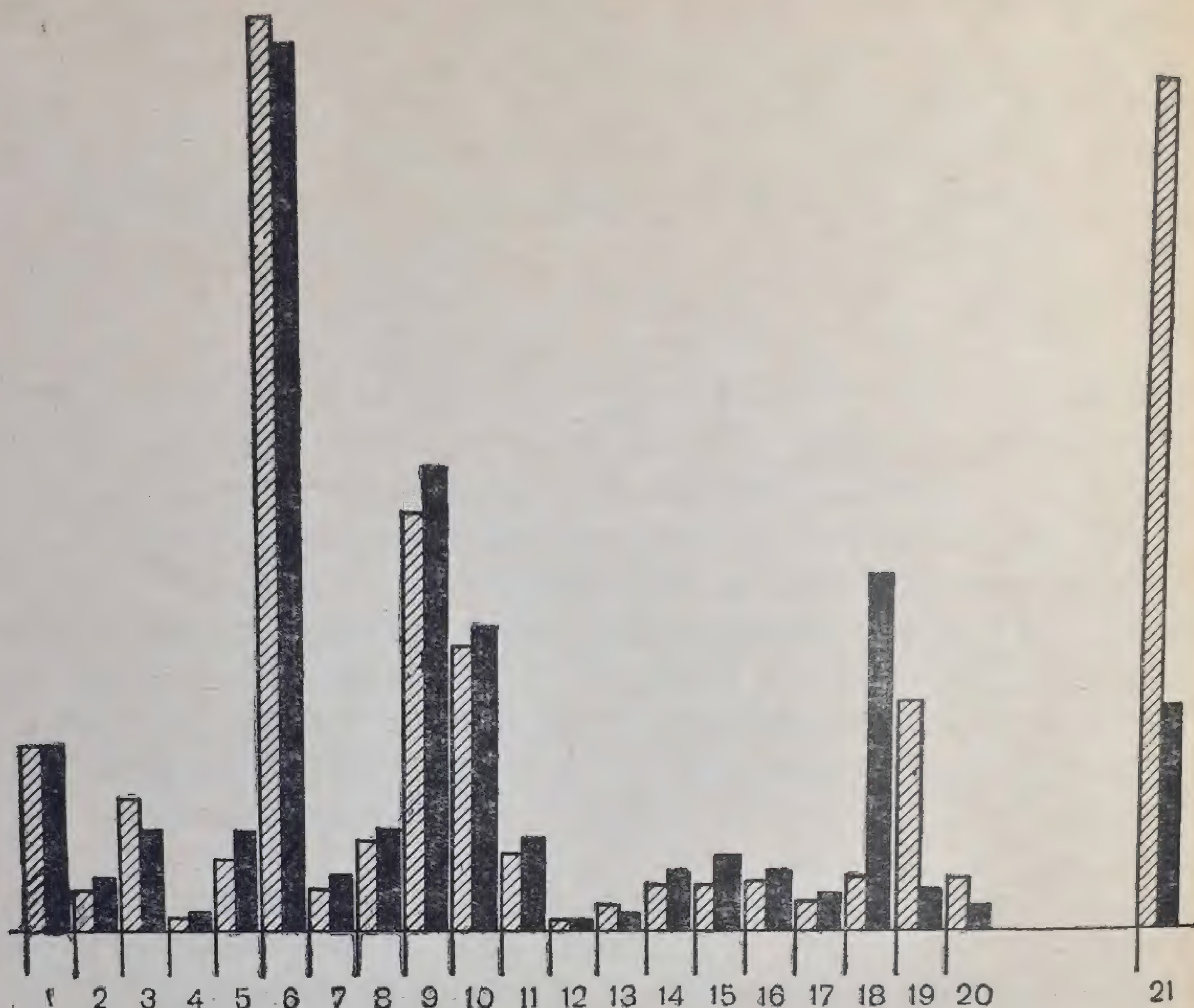


Рис. 2. Сравнительное содержание 20 аминокислот и мочевины в поте, взятом со спины (светлая колонка) и кистей (черная колонка). 1 — треонин; 2 — лизин; 3 — гистидин; 4 — триптофан; 5 — аспарагиновая кислота; 6 — серин; 7 — пролин; 8 — глутаминовая кислота; 9 — глицин; 10 — аланин; 11 — валин; 12 — цистеин; 13 — метионин; 14 — изолейцин; 15 — лейцин; 16 — тирозин; 17 — фенилаланин; 18 — орнитин; 19 — цитрулин; 20 — аргинин; 21 — мочевина. Видно высокое содержание серина, не зависящее от локального происхождения пота (Hадorn, 1962).

щих приблизительно 1,6 мг/л, у курящих — до 7,65 мг/л (Yacoub et al., 1970). Кроме того, пот содержит ферменты (в том числе амилазу), аскорбиновую кислоту и различные аминокислоты: серин, аргинин, гистидин, лейцин, изолейцин, лизин, фенилаланин, треонин, триптофан, тирозин, валин, орнитин, цитрулин и др., причем серин значительно преобладает над другими аминокислотами (рис. 2).

При ультрафиолетовом облучении пятна пота флюоресцируют беловатым или голубоватым светом; это явление можно использовать в качестве ориентировочной пробы при поисках малозаметных пятен, подозрительных на присутствие пота (Х. М. Тахо-Годи, 1957, и др.). Однако никакого доказательного значения

флюоресцентный метод иметь не может, поскольку очень многие вещества биологического происхождения дают подобную флюоресценцию. Однако известно, что пятна пота могут не флюоресцировать, особенно в тех случаях, когда имеются загрязнения и примеси (например, кровь).

Морфологические элементы пота малочисленны и нехарактерны. Встречаются главным образом слущенные эпидермальные клетки и чешуйки, иногда кристаллы (мочевина, холестерин и др.), микроорганизмы, капли жира.

Э. П. Балдин (1967) исследовал пятна пота эмиссионно-спектральным методом. Автор считает, что пот разных людей имеет стабильные различия как по качественному, так и по относительному количественному составу химических элементов.

Слабая концентрация растворенных в поте веществ, бедность и неспецифичность морфологического состава заставляли многих судебных медиков высказывать сомнения относительно возможности объективного доказательства наличия пота в пятнах (Desmarez, 1967, и др.).

В 1963 г. Л. О. Барсегянц разработала реакцию обнаружения пота в пятнах по аминокислоте серину. Выбор именно этого компонента обусловлен рядом причин. Серин относительно специфичен, в поте он присутствует постоянно и в достаточно высокой концентрации, в то время как в других биологических жидкостях его содержится ничтожно малое количество, не обнаруживаемое обычными качественными химическими реакциями. Концентрация серина в поте не изменяется при болезнях обмена, не зависит от характера принимаемой пищи, а также от того, в какой области тела он образуется.

Серин — альфа-амино-бета-оксипропионовая кислота. Он представляет собой бесцветные кристаллы, устойчив при обычной температуре и разлагается при 228°C . Серин обладает характерными свойствами α -аминокислот: дает реакцию с нингидрином, реагирует с азотистой кислотой, подобно другим оксиаминокислотам образует динитрофенильные производные.

В основу способа определения серина в поте положен принцип реакции: окисление серина перйодатом натрия с образованием формальдегида, дающего цвет-

ную реакцию с хромотроповой кислотой (Fisel, 1954). Однако в оригинальной прописи реакция Физеля не давала возможности уверенно дифференцировать пот от других биологических жидкостей в объектах судебно-медицинской экспертизы.

В связи с этим реакция Физеля была модифицирована и разработан следующий метод определения пота в пятнах (Л. О. Барсегянц, 1963).

Если исследуемые пятна расположены на окрашенном или загрязненном вещественном доказательстве, то для предотвращения перехода красителя и загрязнений в вытяжку объект обрабатывают толуолом. Измельченные ножницами кусочки материала, взятые из участка, где подозревается присутствие пота, и из расположенного вблизи него участка предмета-носителя помещают в отдельные пробирки и добавляют толуол в таком объеме, чтобы объекты были полностью погружены в него. Спустя 10 мин толуол отсасывают пастеровскими пипетками.

При отсутствии окраски или загрязнения обрабатывать объект толуолом не нужно, экстрагирование производят непосредственно трихлоруксусной кислотой.

После этого определяют серин следующим образом.

1. К объектам исследования добавляют 20% раствор трихлоруксусной кислоты (кислота должна смочить объект и остаться в незначительном избытке) и выдерживают в течение 20 ч при комнатной температуре. Вытяжку отсасывают и переносят в стаканчик из стекла «пирекс». Серин хорошо растворяется в подкисленной воде, особенно в присутствии трихлоруксусной кислоты, образующей соль с аминогруппой.

2. Реактивы, которые входят в данную реакцию, сами по себе способны вызывать неспецифическую окраску жидкости. Для того чтобы воспрепятствовать этому, к отсосанной вытяжке добавляют 0,5 мл водного раствора тиомочевина. Далее добавляют 1 каплю индикатора — раствора метиленового красного в 0,05 н. растворе соляной кислоты, и затем подщелачивают вытяжку 5 н. раствором едкого натра до рН 10,0—11,0 (по универсальному индикатору). При этом жидкость теряет розовую окраску, обусловленную индикатором, и становится бесцветной. Далее реакцию проводят в том же стаканчике.

3.
3 мл
при к
перфо
цвет
ленно
следу
чезнет
гида.

4.
дение
осажд
10%
корич

5.
1 мл
рия, п
6.

шать
10 мл
воре с
ки, не
шими
бы жи
рин,
цвет, а
желты
ленная

Для
ко все
ры жи
мочев
Тио
тенок,
исследу
вый цв
ствия
кой же
довани
нимает
На
агента
акция
0,002 м

3. Ко всему объему предыдущей смеси добавляют 3 мл раствора перйодата натрия и оставляют на 5 мин при комнатной температуре. Иногда после добавления перйодата натрия жидкость приобретает желтоватый цвет. Это зависит от того, что первоначально добавленное количество щелочи было недостаточно, поэтому следует добавить еще 1—3 капли щелочи, и окраска исчезнет. При этом происходит образование формальдегида.

4. Реакция, как правило, сопровождается высвобождением большого количества белковых веществ, для осаждения которых ко всему объему смеси добавляют 10% раствор трихлоруксусной кислоты до появления коричневого окрашивания.

5. Избыток перйодата натрия устраняют, добавляя 1 мл 10% раствора восстановителя — бисульфита натрия, при этом жидкость становится молочно-белой.

6. После устранения веществ, которые могут мешать реакции, ко всему объему жидкости добавляют 10 мл раствора хромотроповой кислоты в 12,5 М растворе серной кислоты и нагревают над пламенем горелки, не доводя до кипения, в течение 10 мин с небольшими перерывами, постоянно вращая стаканчик, чтобы жидкость перемешивалась. Если присутствует серин, жидкость приобретает красновато-фиолетовый цвет, а если он отсутствует — красный или красновато-желтый (неспецифическая окраска жидкости, обусловленная введением реактивов).

Для полного устранения неспецифической окраски ко всему объему охлажденной до комнатной температуры жидкости добавляют 2 мл водного раствора тиомочевина.

Тиомочевина устраняет красный или красноватый оттенок, зависящий от реагентов, и при наличии пота в исследуемом объекте жидкость приобретает фиолетовый цвет различной интенсивности, а в случаях отсутствия пота становится бесцветной или желтоватой (такой же должна быть жидкость, полученная при исследовании контрольного участка). Все исследование занимает около 20 мин.

На протяжении всей реакции после добавления реагента каждый раз следует встряхивать жидкость. Реакция весьма чувствительна: серин определяется в 0,002 мл жидкого пота и в кусочках материала весом

от 1 мг, взятых из пятен давностью происхождения до 4 сут. При увеличении давности происхождения пятен до нескольких лет требуется увеличение навесок материала до 15 мг. В крови, слюне, слизи из носа, моче, выделениях из влагалища серин с помощью реакции в указанной прописи не определяется даже при увеличении навесок до 300 мг.

Серин обычно удается обнаружить в пятнах пота, подвергшихся кратковременному вымачиванию в растворах стиральных порошков, в слабой щелочи (например, раствор соды) или слабом растворе уксусной кислоты, однако застирывание в этих веществах или с мылом полностью удаляет пот из пятна. Промывание бензином, керосином и перекисью водорода, а также проглаживание горячим утюгом не препятствует обнаружению пота. Пергидроль быстро разрушает серин, поэтому после обработки ею исследуемого материала пот в нем обнаружить невозможно (Л. О. Барсегянц, 1970).

Поскольку определение серина может зависеть как от его концентрации в поте, так и от количества пота в исследуемом объекте, в процессе экспертиз приходится варьировать величину навесок.

Обнаружение пота на вещественном доказательстве всегда должно сопровождаться соответствующим исследованием таких же по массе кусочков не только из участка предмета-носителя, расположенного в непосредственной близости от исследуемого пятна, но и из заведомого пятна пота.

Пот можно обнаружить и в тех случаях, когда он попал на пятно крови или когда последняя находится на вещественном доказательстве, пропитанном потом.

Приготовление реактивов:

1. Раствор тиомочевины готовят, растворяя 4,5 г кристаллической тиомочевины в 100 мл дистиллированной воды.

2. Раствор метилового красного получают при добавлении к 4,12 мл соляной кислоты (относительная плотность 1,19) дистиллированной воды до объема 1 л. Затем в мерную колбу с 4 г метилового красного вливают полученный раствор соляной кислоты, доводя общий объем до 100 мл. Раствор метилового красного разводят равным объемом того же раствора соляной кислоты.

3. Добавляя к 200 г едкого натра дистиллированную воду и доводя объем до 1 л, получают 5 н. раствор едкого натра.

4. Для того чтобы получить раствор перйодата натрия, 22 г его растворяют в дистиллированной воде. Если он полностью не растворяется, добавляют 25 мл 20% раствора серной кислоты (4 части дистиллированной воды + 1 часть серной кислоты). Общий объем жидкости должен составлять 1 л.

5. Бисульфит натрия обычно имеется в продаже в виде 36% раствора. Для того чтобы получить 10% раствор, к 27,8 мл 36% раствора в мерной колбе добавляют дистиллированную воду, доводя объем до 100 мл. Поскольку бисульфит (NaHSO_3) легко окисляется до бисульфата натрия (NaHSO_4), что делает реактив непригодным, 36% раствор предохраняют от соприкосновения с воздухом (пробку каждый раз заливают парафином). Кроме того, проверяют 10% раствор на наличие бисульфат-ионов. К 0,25 мл 10% раствора добавляют 10 мл 20% раствора соляной кислоты, кипятят в течение 5 мин и добавляют 5 капель раствора нитрата или хлорида бария. Немедленное выпадение нерастворимого кристаллического белого осадка свидетельствует о непригодности бисульфита натрия, слабое помутнение допустимо. 10% раствор бисульфита натрия готовят перед применением (хранению не подлежит).

6. Раствор хромотроповой кислоты получают, добавляя постепенно к 300 мл дистиллированной воды в химическом стакане или колбе, постоянно перемешивая, 665,9 мл серной кислоты (относительная плотность 1,84). После охлаждения до комнатной температуры объем доводят дистиллированной водой до 1 л. 500 мг хромотроповой кислоты растворяют в смеси, состоящей из 50 мл дистиллированной воды и 200 мл полученного раствора серной кислоты.

Тиомочевину, перйодат натрия, хромотроповую кислоту и растворы хранят в склянках из темного стекла.

Для установления наличия пота посредством обнаружения серина можно использовать хроматографию в тонком слое с применением сорбента — водного раствора кремневой кислоты (М. В. Кисин, 1974). Растворителем служит смесь метанола, уксусной кислоты и во-

ды (4:1:2), а проявителем для серина — 1% спиртовой раствор нингидрина. По данным М. В. Кисина, реакция чувствительная ($5 \cdot 10^{-6}$ мл пота) и специфична.

ОБНАРУЖЕНИЕ СЕКРЕТА ВЛАГАЛИЩА

Выделения из половых путей женщины и главным образом их следы на вещественных доказательствах могут представить интерес для судебных медиков и криминалистов. Уже самый факт обнаружения их, например, на одежде или постельном белье мужчины, подозреваемого в половом преступлении, может при определенных условиях послужить серьезной уликой. Значение такой улики еще более возросло после того, как были найдены способы определения групповых антигенов влагалищных выделений в следах, обнаруженных на вещественных доказательствах: это сразу же позволило решать вопрос о возможности или невозможности происхождения следов от конкретной потерпевшей. Может также возникнуть вопрос, кому принадлежали те или иные предметы постельного и нательного женского белья; при этом следы влагалищного секрета могут сыграть важную роль для идентификации.

Установление наличия влагалищных выделений весьма важно и в тех случаях, когда они примешаны к пятнам спермы. Эксперт должен учитывать, что подобная примесь благодаря содержащимся в ней изосерологическим факторам может повлиять на результаты определения групповой принадлежности пятен спермы.

Выделения из половых путей женщины представляют собой продукт деятельности фаллопиевых труб, матки, слизистой оболочки стенки влагалища, бартолиновых желез и др. Поэтому обозначение «секрет влагалища» носит условный, обобщающий характер. Подобное обозначение в известной мере оправдано по существу, поскольку в выделениях из половых путей собственно отделяемое стенки влагалища составляет основную часть. Морфологический и химический состав выделений может колебаться в зависимости от возраста и функционального состояния женского организма (овариальный цикл, половая жизнь), соблюдения правил гигиены, патологических процессов.

В норме в межменструальной фазе влагалищное отделяемое представляет собой жидкую прозрачную

слизь со взвешенными морфологическими элементами — клетками влагалищного и маточного эпителия, лейкоцитами (иногда отдельными эритроцитами), микроорганизмами (преимущественно палочкой молочнокислого брожения — палочкой Дёдерлейна). Последняя обуславливает кислую реакцию влагалищного содержимого вследствие образования молочной кислоты. Основным химическим компонентом отделяемого женских половых путей служит муцин, наряду с ним содержатся другие белки, аминокислоты, соли, сахара и др. Характерной составной частью является триметиламин.

Клинически различают следующие степени чистоты влагалища:

1-я степень — реакция кислая, лейкоциты отсутствуют, имеются палочка Дёдерлейна и немногочисленные клетки эпителия. Эта степень наблюдается у девственниц.

2-я степень — реакция слабокислая, видны отдельные лейкоциты, клетки влагалищного эпителия. Много палочек Дёдерлейна, встречаются изогнутые бациллы.

3-я степень — реакция щелочная, мало палочек Дёдерлейна, обилие эпителиальных клеток, многочисленные изогнутые бациллы, грамположительные и грамотрицательные кокки, много лейкоцитов.

4-я степень — реакция щелочная, палочки Дёдерлейна отсутствуют, много эпителия, очень много лейкоцитов, смешанная флора со стрептококками, сарцинами, иногда трихомонады.

В первом десятилетии после наступления менопаузы во влагалищном секрете отмечается появление большого количества клеток промежуточного эпителиального слоя. После 60 лет в норме обнаруживаются лишь базальные клетки и лейкоциты при повышенном рН среды со значительными качественными и количественными изменениями вагинальной микрофлоры (И. В. Давыдовский, 1966).

Макроскопические следы выделений влагалища на одежде и постельном белье имеют вид беловатых или желтоватых крахмальноподобных пятен или помарок, которые при ультрафиолетовом облучении флюоресцируют слабым зеленоватым светом. Примесь крови или продуктов ее распада придает пятнам красноватый или коричневый цвет, при примеси гноя или белях пятна приобретают сероватую или зеленоватую окраску.

Клетки многослойного плоского эпителия содержат повышенное по сравнению с другими выделениями количество гликогена. Некоторые авторы (Merkel, 1924; Ronsold, 1957; Furuu, 1966) пытались использовать эту особенность для обнаружения влагалищного секрета, применяя различные модификации общеизвестной реакции с раствором Люголя. Глыбки гликогена окрашиваются йодом в коричневый цвет. Однако способ непригоден, поскольку гликоген может содержаться и в других клетках, хотя и в меньших количествах, причем различие это не всегда удастся уловить. Кроме того, йод-гликоген не всегда можно отличить от других коричневатых элементов, глыбок гемоглобина.

Н. Г. Шалаев (1965) предложил диагностировать клетки влагалищного эпителия по гликогену и некоторым особенностям расположения полового хроматина во влагалищных клетках. Принцип метода следующий: учитывая, что гликоген легко растворим, его предварительно фиксируют в клетке, после чего окрашивают йодом; половой хроматин окрашивают крезилвиолетом или толуидиновым голубым, или гематоксилин-эозином. Н. Г. Шалаев пытался также использовать особенности влагалищной флоры, а именно — преобладание в ней палочки Дёдерлейна. Автор сам указывает на возможные, подчас неустранимые помехи, влияющие на надежность этих методов. Гликоген не удастся обнаружить в замытых следах. В детском и старческом возрасте он вообще отсутствует в эпителии влагалища. Гликоген нередко содержится в клетках слизистой оболочки мужской уретры. Что касается палочки Дёдерлейна, то ее даже в типичной форме трудно отличить от микроорганизмов, встречающихся в содержимом препуциального мешка мужчины. Еще труднее дифференцируются часто встречающиеся атипичные формы. Кроме того, под влиянием внешних воздействий (влажность, высушивание, перепады температуры, химические факторы) возможна денатурация гликогена или удаление его из клеток. Половой хроматин содержится в клетках не только слизистой оболочки влагалища, но и других органов, а его расположение в клетке может нарушаться под действием вышеуказанных факторов.

Mueller (1975) тоже указывает, что реакцию на гликоген в клетках можно использовать при исследовании секрета влагалища. При отрицательном результате мож-

но попытаться высеять из объекта палочку Дёдерлейна. Посев производят на агаре с добавлением экстракта дрожжей, декстрозы, хлорида натрия, триптиказы и томатного сока. Однако следует иметь в виду, что палочка Дёдерлейна содержится также в кале грудных младенцев, а при некоторых заболеваниях и в рвотных массах.

Таким образом, данные методы имеют значение лишь предварительной ориентирующей пробы (Е. И. Зайцева, 1964; Marchand et al., 1952).

Безуспешными были попытки обнаруживать влагалищный секрет по постоянному компоненту — триметиламину посредством хроматографии. Оказалось, что аналогичные результаты получают и при исследовании следов гноя. Неспецифичный результат получался и при попытках обнаружить триметиламин химическим путем.

Обнадеживающие результаты получены при использовании спектрального метода (см. раздел V). В некоторых случаях может помочь и цитологическое исследование.

ОБНАРУЖЕНИЕ МОЛОКА И МОЛОЗИВА

Следы женского молока на вещественных доказательствах могут иметь самостоятельное судебно-медицинское и криминалистическое значение, преимущественно когда речь идет о детоубийстве. Чаще же их значение оказывается побочным и проявляется при исследовании других выделений (спермы, вагинального секрета). Благодаря содержанию в молоке женщин групповых антигенов примесь его к следам других выделений может маскировать результаты определения групповой принадлежности последних. В связи с этим возникает необходимость дифференцировать следы молока от других выделений.

Молоко женщины представляет собой водную взвесь капелек жира, клеток железистого эпителия, лейкоцитов, зернистых образований, кристаллов. В его состав входит 83—89% воды, 2,8—3,8% белковых веществ (казеин, лактоальбумин, лактоглобулин). Жировые вещества составляют в среднем 3,9%, они состоят из нейтрального жира и небольшого количества липидов: лецитина, холестерина, эргостерина. Жир в молоке находится в виде эмульсии, состоящей из взвешенных в жидкости жировых шариков различных размеров (0,5—10 мкм). Углеводы молока представлены главным образом α -лактозой, содер-

жаты витамины А, В₁₂, С, D. Минеральные элементы в среднем составляют 0,75% и представлены хлоридами натрия, калия, цитратами калия, кальция и магния, содержатся также железо, медь, цинк.

Молозиво — секрет молочных желез, выделяемый в небольшом количестве уже во второй половине беременности. Кроме жировых (молочных) шариков, в нем содержатся молозивные тельца. Химический состав молозива подвержен значительным колебаниям. Оно богато белками и солями. Углеводов, как правило, содержится меньше, а жира такое же количество, что и в зрелом женском молоке. Молозиво относительно богато глобулинами и альбуминами, натрием, фосфором, калием. Из микроэлементов содержатся медь, цинк, никель и кобальт.

Пятна молока макроскопически не представляют чего-либо характерного.

К. И. Хижнякова (1958) изучила изменения морфологического и химического состава молока и молозива и убедилась в их большой вариабельности в зависимости от функциональных и патологических изменений в организме женщины. Тем не менее неизменной остается одна особенность молока, не свойственная никакому другому выделению, — это наличие относительно большого количества жира. Последний весьма устойчив к внешним воздействиям. Он легко выявляется посредством общеизвестных гистохимических реакций (окраска суданом — см. раздел I), а также способами, применяемыми в практике пищевой гигиены. Женское молоко вызывает задержку агглютинации в реакции с картофельным соком. Поэтому данную реакцию можно также использовать для обнаружения следов женского молока и дифференцирования их от других выделений. Правда, аналогично реагирует с картофельным соком и сперма, однако тут диагностика не представляет затруднений, если дополнительно произвести реакцию на жир и исследование на наличие сперматозоидов.

Кроме того, в необходимых случаях можно обратиться к помощи цитолога с тем, чтобы исследовать морфологические элементы и определить их половую принадлежность.

Некоторые авторы предложили свои методы для обнаружения женского молока. Müller (1967) высушивал пятна молока до постоянной массы и определял важней-

шие составные части: общий азот, лактозу и минеральные компоненты золы.

Canale и соавторы (1967) обнаруживали женское молоко методом иммуноэлектрофореза.

Однако наиболее простым и надежным следует признать способ обнаружения молока по присутствию жира.

ОБНАРУЖЕНИЕ ГНОЯ

Необходимость обнаружения гноя может возникнуть в связи с тем, что пятна его иногда бывают похожи на следы, оставленные спермой, влагалищным секретом, молоком и др., а также в тех случаях, когда имеется подозрение на примесь гноя к различным выделениям.

Обычно гной весьма богат клеточными элементами, основную массу которых составляют лейкоциты, тканевые элементы и детрит, микроорганизмы, встречаются также кристаллы и капельки жира. Важное значение с точки зрения возникновения помех при исследовании других биологических жидкостей имеет наличие в гное хорошо выраженных групповых антигенов.

Пятна гноя на нательном и постельном белье имеют желтый, серый или зеленый цвет, обычно жестки на ощупь, хорошо контурированы.

Морфологическая диагностика чистого гноя, как правило, особых затруднений не представляет благодаря присутствию в нем огромного количества лейкоцитов. Иное положение создается при наличии примеси гноя к следам других выделений. Дифференцирование его по морфологическим и химическим признакам (см. выше — секрет влагалища) становится невозможным. В таких случаях для идентификации следов гноя можно попытаться применить спектральную методику (см. раздел V).

ОБНАРУЖЕНИЕ ВЫДЕЛЕНИЙ ИЗ НОСА

Они могут представить непосредственный интерес для следствия как одно из средств для идентификации владельца носового платка, поскольку последний иногда применяется преступником для закрывания рта своей жертвы или для стирания каких-либо обличающих следов (спермы, крови и др.). Известно также, что в выделениях из носа могут содержаться антигены, которые,

примешиваясь к следам других выделений, затрудняют определение их групповой принадлежности.

В состав выделений из носа входят муцин, эпителиальные клетки, лейкоциты, микроорганизмы, иногда эритроциты, инородные включения (пылевые частицы), много солей. Кроме того, в слизи из носа всегда содержится примесь секрета слезных желез. Никаких характерных идентификационных признаков эти элементы не имеют.

Физические, химические и морфологические свойства отделяемого из носа могут изменяться в широких пределах в зависимости от внешней среды (температура и влажность наружного воздуха), патологических состояний, приема лекарственных средств. Имеют значение и возрастные особенности: старческая атрофия слизистой оболочки и слизистых желез носа, сопровождающаяся увеличением вязкости и уменьшением количества выделяемого секрета (И. В. Давыдовский, 1966).

Обнаружить и дифференцировать выделения из носа иногда удается при спектральном исследовании макро- и микроэлементного состава (см. раздел VII).

ОБНАРУЖЕНИЕ ПРОЧИХ ВЫДЕЛЕНИЙ

Обнаружение сыровидной смазки, околоплодной жидкости, лохий, ушной серы, кала целесообразно поручить цитологу, поскольку других достоверных биологических способов их выявления не существует. То же можно сказать и относительно первородного кала, хотя Eliakis и соавторы (1971) считают, что меконий можно дифференцировать от других биологических объектов по весьма высокому содержанию в нем кислой фосфатазы. Количество последней определяют спектральным путем по отщепленному паранитрофенолу. Относительно определения видовой и групповой принадлежности этих выделений см. раздел VI.

Giersten (1962) в процессе экспертизы обнаруживает кал в пятнах по наличию кишечной палочки, энтерококков, непереваренных частиц пищи, присутствию простейших и яиц глист. Большое доказательное значение автор придает обнаружению уробилина, однако это не всегда удается сделать при исследовании высохших следов.

ДИФФЕРЕНЦИРОВАНИЕ ВЫДЕЛЕНИЙ ЧЕЛОВЕЧЕСКОГО ОРГАНИЗМА ПУТЕМ ЭМИССИОННОГО СПЕКТРАЛЬНОГО АНАЛИЗА

Эмиссионный спектральный анализ в ряде случаев позволяет осуществлять дифференцирование биологических жидкостей, в частности в тех случаях, когда другие способы исследований оказываются недостаточно эффективными.

Ряд преимуществ спектрального метода, его объективность и точность побудили многих авторов применить его для обнаружения и дифференцирования следов выделений организма, обнаруживаемых на вещественных доказательствах.

Спектр флюоресценции пятен спермы характеризуется, по данным разных авторов, полосой поглощения, расположенной между 353 и 500 нм, и тем самым резко отличается от спектров других биологических объектов (Н. Г. Иваницкая, Н. Н. Бокариус, 1940—1941; Dérobert et al., 1938).

В. И. Матвееenko и соавторы (1961), исследуя пятна спермы и мочи с помощью метода эмиссионной и абсорбционной спектрографии, выявили в сперме значительные количества кремния, марганца, магния, алюминия, кальция, цинка, стронция, а в моче преобладание натрия, железа, титана, калия, никеля, кобальта, хрома и бария. При этом оказалось, что влагалищный секрет пропускает значительно больший участок ультрафиолетового излучения. Однако этот метод не дает надежных результатов при исследовании пятен, смешанных с кровью.

Н. М. Губин (1962, 1964) применил эмиссионный спектральный анализ при исследовании пятен спермы, мочи и влагалищного секрета. Его результаты несколько расходятся с данными В. И. Матвееenko и соавторов. В пятнах спермы он постоянно находил кремний, фосфор, магний, железо, алюминий, медь, кальций, натрий, цинк и эпизодически — марганец и титан, а в пятнах

мочи — кремний, фосфор, магний, железо, алюминий, медь, кальций и натрий, т. е. почти все те элементы, что и в сперме. Схожая со спермой качественная картина была обнаружена и в пятнах влагалищных выделений, но линии почернения, свойственные калию, натрию и кальцию, в них были выражены слабее. Автор предлагает дифференцировать пятна спермы по наличию в них цинка, которого не содержится в других выделениях. Однако базироваться только на этом критерии едва ли возможно, так как именно цинк чаще, чем какие-либо другие вещества, может попадать на белье и одежду, например при стирке в оцинкованном корыте, на стиральной доске, при пользовании цинксодержащими мазями и присыпками и т. д. (см. главу I).

В зависимости от воздействия различных факторов наблюдаются колебания микроэлементного состава выделений. Так, в период полового созревания происходит накопление натрия, фосфора и особенно магния (Б. М. Семенов, 1966), при раковых заболеваниях изменяется соотношение элементов в моче (Н. А. Каприкадзе, 1967). Б. М. Семенов и соавторы (1968) обнаружили сдвиги в соотношениях магния к натрию, кальцию, меди и фосфору при азооспермии.

Ю. В. Павлов (1964) и Н. М. Губин (1965), пользуясь методом пламенной фотометрии, установили, что в пятнах мочи калий и натрий содержатся в больших количествах, чем в сперме, и в значительно больших, чем в секрете влагалища.

Обнаружение и дифференцирование жидкостей организма по микроэлементному составу можно проводить, используя систему относительных спектральных характеристик, разработанную в Научно-исследовательском институте судебной медицины В. М. Колосовой (Л. О. Барсегянц, 1967). Для этого эмиссионный анализ проводят на спектрографе ИСП-28 при тщательном соблюдении постоянства основных параметров эксперимента: трехлинзовой системе освещения, при ширине щели 0,018 мм, питании дуги от генератора ПС-39, использовании силы тока 7 А, спектральных пластинок типа II с чувствительностью 16 ед. Съемку производят через трехступенчатый ослабитель, фотометрирование — микрофотометром МФ-2. В основном используют отношение плотности почернения аналитических линий обнаруженных элементов друг к другу или к фону. Статистическую об-

работку доводят до определения коэффициента достоверности, при помощи которого устанавливают возможность использовать изучаемые микроэлементы (или их соотношения) в качестве дифференциальных признаков.

Выявились некоторые качественные различия: отсутствие фосфора в выделениях из носа и ничтожные следы марганца в крови, цинка в сперме, серебра в выделениях из носа и иногда в выделениях из влагалища.

Наряду с качественными признаками используются относительные количественные характеристики натрия, калия, фосфора, меди, стронция, железа, марганца, кальция, магния, серебра, цинка и их соотношения (Na/Sr , P/Ca , Cu/Ca , Fe/Mg , Ca/Mn).

В некоторых случаях совокупность качественных и количественных особенностей содержания отдельных элементов позволяет сделать предположительный вывод. Например, обнаружение цинка и большого количества фосфора при отсутствии серебра (в пределах чувствительности эксперимента) позволяет заподозрить присутствие спермы.

Таким образом, жидкости человеческого организма можно дифференцировать по количественному и отчасти по качественному содержанию в них микроэлементов. Это обстоятельство можно использовать, в частности для дифференцирования влагалищного секрета от слизи из полости носа, а также гноя, что не удастся осуществить с помощью других методов исследования (см. раздел IV).

Однако, учитывая высокую чувствительность спектральных методов, эксперт в каждом отдельном случае должен проявлять осторожность при оценке результатов исследования, принимая во внимание возможность случайного попадания на вещественное доказательство тех или иных веществ.

Исследование выделений в пятнах спектральным методом применили Э. Б. Балдин (1968), а также М. А. Васильев (1967), который, используя в качестве элемента сравнения фосфор, смог дифференцировать пятна кала, сперму, мочу, секрет из влагалища, мокроту, а также хлорофиллсодержащие объекты. Н. М. Губин и соавторы (1967) дифференцировали с помощью спектрального метода сперму, мочу, секрет влагалища и мокроту. Исследовали объекты, взятые как от здоровых, так и от боль-

ных людей. Основным дифференцирующим признаком служит количественное содержание калия и натрия.

В настоящем разделе изложена принципиальная возможность использования спектральных методов при судебно-медицинской экспертизе выделений. Сама же по себе техника проведения спектрального исследования и оценки полученных результатов достаточно сложна. Она требует специальных навыков и подготовки.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ВИДОВОЙ ПРИНАДЛЕЖНОСТИ ВЫДЕЛЕНИЙ

Видовую принадлежность следов необходимо устанавливать, когда возникает хотя бы малейшее подозрение на то, что они могли быть оставлены животными. Особенно это относится к таким выделениям, как слюна, моча, пот. Слюна может быть оставлена животными на остатках пищи, посуде, одежде. Следы мочи мышей и крыс могут находиться на пищевых продуктах, моча собак и кошек — на различных предметах домашнего обихода, на почве, на снегу и т. д.

Необходимость определять видовую принадлежность пота возникает реже, поскольку большинство животных, с которыми соприкасается человек повседневно, не обладают (или почти не обладают) способностью к потоотделению. Но именно благодаря этому обстоятельству положительный результат такого исследования приобретает особую криминалистическую ценность. Так, например, если где-либо обнаруживаются предметы одежды, владелец которых неизвестен, то обнаружение на них следов лошадиного пота будет указывать на то, что эти объекты принадлежали лицу, ухаживающему за лошадьми или едущему верхом. Этот факт позволит сузить круг поисков и облегчить работу следователя. Такое же значение имеет и обнаружение на одежде следов пота (а также слюны) крупного и мелкого рогатого скота.

Для определения видовой принадлежности большинства выделений обычно используют реакцию преципитации Чистовича — Уленгута в жидкой среде. Сущность реакции и общие принципы техники ее выполнения здесь не приводятся, поскольку они даны в руководствах по судебной медицине, а излагаются лишь некоторые особенности проведения этой реакции применительно к отдельным выделениям.

СПЕРМА

Вопрос о видовом происхождении спермы, как правило, не возникает, поскольку возможность попадания спермы животного на вещественные доказательства весьма сомнительна. Вообще же сперма представляет собой белковую жидкость, видовую принадлежность которой можно определить с помощью реакции преципитации. Следует лишь, учитывая высокую концентрацию белка, довести ее общепринятым способом до 1:1000. Кроме того, сперматозоиды человека имеют характерную форму, существенно отличающуюся от сперматозоидов животных.

СЛЮНА

В слюне содержится довольно значительное количество белка, однако вытяжки из пятен ее обычно бывают мутными, что затрудняет проведение реакции в жидкой среде. Поэтому чаще пользуются реакцией в геле.

Mueller (1975) указывает, что посредством реакции преципитации удастся определить видовую принадлежность свежей слюны в разведениях 1:20—1:30. Из сухих пятен он рекомендует брать вырезки площадью около 4 см². В Советском Союзе применяются методы, позволяющие обходиться значительно меньшим количеством материала (реакция электропреципитации, см. далее).

ПОТ

Определить видовое происхождение пота с помощью обычных реакций преципитации в жидкой среде и в геле не удастся вследствие ничтожного содержания в нем белка. Для этой цели можно с успехом применять высокочувствительную реакцию электропреципитации (Л. О. Барсегянц, 1973, 1974)¹, разработанную для исследования крови Hirschfeld (1959) и модифицированную Schlesinger и соавторами (1963).

Техника реакции следующая. Стеклянную пластинку покрывают слоем агара. В нем проделывают лунки диаметром 0,2 см, располагая их параллельными попереч-

¹ Методические рекомендации об установлении наличия и видовой принадлежности пота. М., Министерство здравоохранения СССР, 1976.

I — вид
лянные

ными
одного
Число
торцов
но по
ладыв
кажды
(внутр
делами
Во
ный бу
лактат
В каж
ской ф
в перех
внутрен
роваль
ночки
ских ш

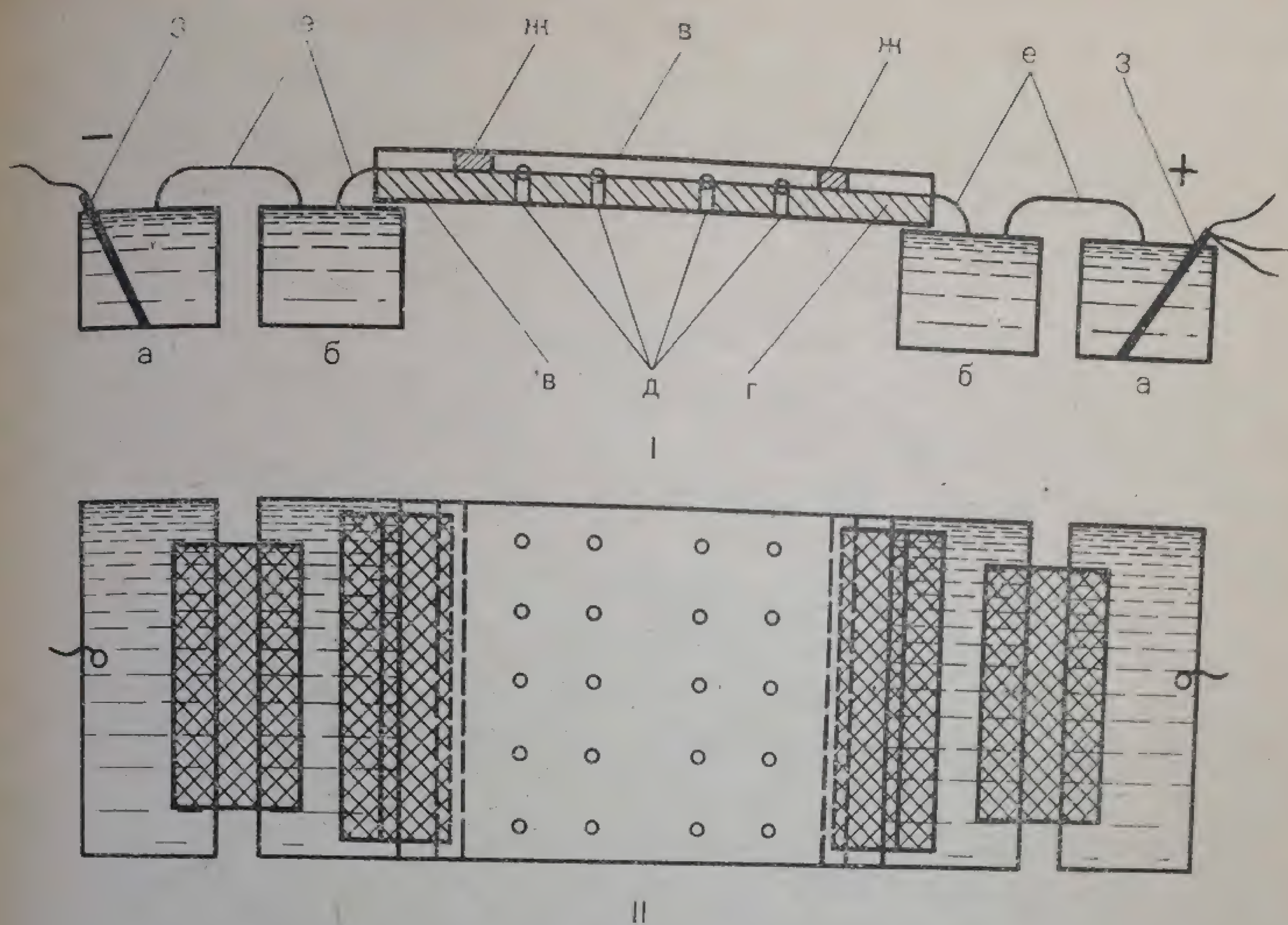


Рис. 3. Установка для электропреципитации.

I — вид сбоку: а — внешние ванночки; б — внутренние ванночки; в — стеклянные пластинки; г — слой агара; д — лунки; е — полоски фильтровальной бумаги; ж — прокладки; з — электроды; II — вид сверху.

ными рядами (расстояние между лунками в пределах одного ряда 1 см, расстояние между рядами 1,5 см). Число лунок зависит от числа объектов. Соответственно торцовым концам пластинки устанавливают параллельно по две продолговатые прямоугольные ванночки и укладывают на них пластинку агаром вверх так, чтобы каждый конец ее лежал на краю одной из ванночек (внутренней), а вторая (внешняя) осталась бы за пределами пластинки (рис. 3).

Во все ванночки заливают так называемый переходный буферный раствор: меди нал 8,76 г, вероната 1,38 г, лактата кальция 0,384 г, дистиллированной воды 1 л. В каждой паре ванночки соединяют между собой полоской фильтровальной бумаги, концы которой погружают в переходный буферный раствор. Кроме того, из каждой внутренней ванночки выводят еще одну полоску фильтровальной бумаги на агаровый слой. Во внешние ванночки вводят угольные электроды в виде цилиндрических штифтов. Установка двух ванночек у каждого кон-

ца пластинки обусловлена необходимостью обеспечить чистоту буферного раствора, поступающего в агаровый слой, поскольку замечено, что при контакте с угольным электродом жидкость загрязняется.

В лунки одного продольного ряда вносят вытяжки из подозрительных пятен или небольшие вырезки тканей (иногда единичные отрезки нитей) с каплей изотонического раствора хлорида натрия. В соответствующие лунки параллельного ряда вносят преципитирующие сыворотки, обычно применяемые для определения вида крови.

Агаровый слой накрывают другой пластинкой, оставляя между ними промежуток, что достигается прокладыванием между концами пластинок сложенной в несколько раз фильтровальной бумаги, смоченной раствором переходного буфера. Затем включают ток.

Электропреципитацию продолжают в течение 20 мин при напряжении 350—400 В/см и силе тока 32 мА.

Этим же способом можно пользоваться для того, чтобы дифференцировать пот различных животных.

МОЧА

В настоящее время судебная медицина не располагает достоверными способами, которые позволили бы дифференцировать видовые свойства мочи. Серологические реакции, применяемые при исследовании других выделений, для исследования мочи непригодны, поскольку она в норме содержит ничтожно малое количество белка.

В 1956 г. Thoma предложил дифференцировать мочу человека и животных по содержанию в ней алантоина, исходя из того, что последний в большом количестве в моче животных имеется в отличие от мочи человека.

С этой целью Thoma предложил несколько методик. Однако последующие исследования показали, что они неспецифичны.

КАЛ

Установить видовую принадлежность кала посредством реакции преципитации Чистовича — Уленгута не удается (Mueller, 1975).

В. И. Чарный (1976) провел сравнительное изучение

чувствительности и специфичности, применительно к определению видовой принадлежности биологических объектов, трех вариантов реакции преципитации: в жидкой среде (кольцепреципитация), в геле (агаре) и встречного электрофореза в агаре (электропреципитация). Наибольшей чувствительностью обладает метод электрофореза, наименьшей — преципитация в агаре. В отношении специфичности отмечено обратное: она выше всего у кольцепреципитации и оказывается слабее всего у электрофореза.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ КАТЕГОРИИ ВЫДЕЛИТЕЛЬСТВА И ГРУППОВОЙ ПРИНАДЛЕЖНОСТИ ВЫДЕЛЕНИЙ

В 1926 г. Yamakami и независимо от него Landsteiner и соавторы впервые обнаружили, что в сперме содержатся групповые вещества. Вслед за тем Brahn и соавторы (1929) и Thomsen (1930) обнаружили групповые антигены в моче, аналогичные тем, которые были найдены в крови. В 1930 г. Lehrs и в 1932 г. Schiff и соавторы обнаружили антигены системы АВ0 в слюне. Вскоре после этого рядом авторов были выявлены групповые антигены и в других выделениях, а также в жидкостях и тканях организма.

Эти открытия послужили толчком к интенсивному изучению изосерологической характеристики выделений. Для судебных медиков они обещали дать возможность приблизиться к индивидуальной диагностике следов выделений. Разумеется, столь заманчивая перспектива не могла не заинтересовать органы следствия и они чаще стали назначать судебно-медицинскую экспертизу следов выделений, обнаруживаемых на вещественных доказательствах. Однако приблизительно у 20% людей антигены в выделениях обнаружить не удавалось. Это послужило основанием к тому, чтобы разделить людей на выделителей групповых антигенов и невыделителей.

Однако некоторые исследователи (П. Н. Косяков и др., 1952, и др.) считают, что понятие невыделительства является условным, поскольку даже у так называемых невыделителей в выделениях обнаруживались групповые антигены, но только в количествах, которые не выявляются обычными методами исследования. Поэтому многие авторы полагают, что правомернее было бы в таких случаях говорить о слабых выделителях. Тем не менее термин «невыделитель» повсеместно удержался в судебной медицине. М. А. Бронникова (1968) считает целесообразным употреблять этот термин в кавычках. Явле-

ние выделительства принято обозначать символом Se, невыделительства — se.

Исследования последних лет показали, что, помимо слабых выделителей, существуют, по-видимому, и истинные невыделители групповых антигенов. Так, Fiogì и соавторы (1971) фракционировали в геле на сефадексе с колонками G-200 и G-100 и в тонком слое образцы слюны. Полученные фракции элюировали из геля и изучали их химические и иммунологические свойства (последние в реакции задержки агглютинации). Во всех образцах слюны выделителей присутствовали основная, серологически наиболее активная, фракция, названная 1-й, которая не отличалась по своим свойствам от очищенных групповых субстанций, полученных обычными методами. Эта фракция обладала свойством гликопротеидов. Помимо 1-й фракции, многие образцы слюны выделителей содержали дополнительную 2-ю, а иногда и 3-ю фракции, растворимые в воде и алкоголе. Эти фракции обладали специфической активностью в реакции задержки агглютинации, но она была значительно ниже, чем активность 1-й фракции. При сравнительном исследовании выделителей и невыделителей авторы установили, что у выделителей существует 4 типа слюны: тип I—1-я фракция, тип II—1-я, 2-я фракция, тип III—1-я, 3-я фракция; тип IV—1, 2, 3-я фракция. В слюне невыделителей 1-я фракция отсутствует. В ней также различают 4 типа: тип V—2-я фракция; тип VI—3-я фракция; тип VII—2, 3-я фракция и тип VIII, в котором нет ни одной из указанных фракций. Таким образом, истинные невыделители все же существуют.

Феномен выделительства наиболее четко определяется при исследовании слюны. Групповые антигены хорошо выявляются обычно в сперме, влагалищном секрете, слизи из полости носа, гное, желчи, значительно слабее — в других выделениях. В некоторых весьма немногих биологических объектах, в частности в глазных средах, их пока обнаружить не удалось.

Интенсивность выделительства у одного и того же человека может изменяться в зависимости от различных условий. Так, например, злоупотребление спиртными напитками иногда снижает степень выраженности антигенов системы АВ0 вплоть до того, что больного хроническим алкоголизмом можно будет отнести к категории невыделителей (Н. И. Кузнецова, 1973; Swinson et al., —

1973). В состоянии абстиненции у больных хроническим алкоголизмом сила выраженности антигенов при взаимодействии с растительным экстрактом больше, чем в состоянии ремиссии. Титр антител групп А и В в слюне может повышаться после оспопрививания (Buttchereit et al., 1969).

В моче при любом заболевании почек титр антигена А, как правило, повышается, причем это повышение не зависит от тяжести заболевания и от наличия или отсутствия протеинурии (Ottenssooser et al., 1971).

При хранении выделений в жидком виде титр групповых антигенов может снижаться в результате жизнедеятельности некоторых микроорганизмов. В опытах А. З. Павловой (1974) грибы *Candida* вызывали в жидкой сперме снижение титра агглютиногена А на две ступени при воздействии в течение 18 сут. Другие микроорганизмы, обычно находящиеся во влагалище, на титр агглютиногена не влияли.

Групповые антигены, свойственные выделениям и тканям, образуются в самих клетках тканей, а не за счет фильтрации из сыворотки крови (Т. М. Масис, 1966; Friedenreich et al., 1938).

Помимо системы АВ0, в том или ином выделении у выделителей могут содержаться и другие антигены. Так, Klose (1962) выявил группу Gm (1) в сперме выделителя по системе АВ0, имевшего антиген Gm (1) в крови. В то же время в сперме невыделителя системы АВ0 обнаружить антиген Gm (1) не удалось.

Edwards и соавторы (1964) считают, что в сперматозоидах имеются антигены М и N. Такого же мнения придерживаются Л. Попиванов и соавторы (1973). Gullbring (1975) обнаружил фактор D системы Rh в сперме, Roy и соавторы (1962) — в околоплодной жидкости.

Групповые антигены у выделителей качественно всегда соответствуют их группе крови, они остаются неизменными на протяжении всей жизни человека лишь с небольшими колебаниями количественного содержания. Благодаря этому можно решать вопрос о возможности происхождения выделений от определенного лица. Ю. П. Делевский (1966, 1975) утверждает, что у одного и того же лица групповые антигены в крови и выделениях могут быть различными, а сама группа крови на протяжении жизни может несколько раз изменяться. Он допускает также возможность различия в антигенной ха-

рактёр
ловека
А. К.
стоятел
им се
Ю. П.
подтвер
зультат
гически
ческих
Фен
ным, ч
спорног
Нас
по схем

В 194
серологи
эритроци
ма имеет
Тот или
всех взр
как у в
группу к
Grubb
ства или
ственно з
ственна
Le (a + b -
выделите
как выде
тапов (1
Le (a - b -
содержит
лителей,
был содер

рактике разных выделений у одного и того же человека. В. И. Прозоровский с сотрудниками (1975), А. К. Туманов с сотрудниками (1976) показали несостоятельность концепции Ю. П. Делевского, допущенные им серьезные методические ошибки. Точка зрения Ю. П. Делевского противоречит данным, неоднократно подтвержденным во всех странах мира на основании результатов, полученных при иммунологических, серологических, генетических, иммунохимических и биологических исследованиях.

Феномен Se и se является генетически обусловленным, что позволяет использовать его при экспертизе спорного отцовства, материнства и замены детей.

Наследование категории выделительства происходит по схеме:

Родители		Ребенок	
Se	Se	Se	se
Se	se	Se	se
se	se		se

СВЯЗЬ ВЫДЕЛИТЕЛЬСТВА С ГРУППАМИ КРОВИ СИСТЕМЫ ЛЬЮИСА

В 1946 г. Mourant и в 1947 г. Andresen описали изо-серологическую систему Льюиса (Lewis), связанную с эритроцитами. Первоначально полагали, что эта система имеет 3 группы: Le (a+b-), Le (a-b+), Le (a-b-). Тот или иной антиген системы Le имеется в крови всех взрослых людей, они присутствуют и в выделениях как у выделителей, так и у невыделителей, имеющих группу крови АВН.

Grubb (1948) установил, что феномен выделительства или невыделительства по системе АВ0 непосредственно зависит от того, какая именно группа Le свойственна эритроцитам крови. Так, люди с группой Le (a+b-) являются невыделителями, а Le (a-b+) — выделителями, люди с группой Le (a-b-) могут быть как выделителями, так и невыделителями. М. И. Потапов (1970) внес дополнение: у лиц с группой Le (a-b-) в случае, если они являются выделителями, содержится в крови антиген Le^d. Что касается невыделителей, то у них, по мнению М. И. Потапова, должен содержаться антиген Le^c. И действительно, в 1972 г.

Gunson и Latham обнаружили этот антиген в эритроцитах невыделителей группы Le (a-b-).

По системе Льюиса группа Le (a-b-) выражена у выделителей как Le (a-b-c-d+), а у невыделителей как Le (a-b-c+d-).

Все сказанное о связи выделительства с системой Льюиса относится ко взрослым; у детей и подростков группы Льюиса окончательно формируются в возрасте от нескольких месяцев приблизительно до 18 лет (М. А. Бронникова и др., 1968). До этого периода у них может иметь место несоответствие между группой Льюиса и категорией выделительства. У взрослых такое несоответствие встречается лишь в исключительных случаях.

В отношении присутствия антигенов системы Льюиса в выделениях можно сказать, что у невыделителей по системе АВ0, имеющих в крови группу Le (a+b-), в сперме почти всегда содержится антиген Le^a. У выделителей, имеющих группу Le (a-b+), в сперме антиген Le^b содержится лишь в 54,5% случаев, а в остальных 45,5% — оба антигена Le^a и Le^b. У выделителей с группой Le (d+) в сперме антиген Le^a встречается редко, а антиген Le^b присутствует почти всегда. В сперме лиц с группой крови Le (c+) есть антиген Le^a и нет антигена Le^b (Л. К. Аржелас, 1969). Содержание антигенов системы Le в сперме не связано с интенсивностью половой жизни (В. И. Алексеева, 1976). В моче как выделителей, так и невыделителей системы АВ0 антигены Le^a и Le^b могут быть выявлены в соответствии с наличием их в крови (Л. К. Аржелас, 1966).

В слюне выделителей по системе АВ0, имеющих в крови группу Le (a-b+), содержится фенотип Le (a+b+). У выделителей с группой крови Le (d+) в слюне имеются фенотипы: Le (a+b+), Le (a-b+) и Le (a-b-). У невыделителей с группой крови Le (a+b-) в слюне содержатся 2 фенотипа: Le (a+b+) и Le (a+b-), а у имеющих в крови группу Le (c+) в слюне присутствует только фенотип Le (a+b-) (М. И. Потапов, 1973).

Содержание антигенов системы Le в слюне не изменяется при различных фазах пищеварения (В. И. Алексеева, 1976).

Антигены системы Льюиса весьма четко выражены также в женском молоке.

Л. К. Аржелас (1967), В. И. Алексеева (1976) отметили, что у лиц, имеющих группу крови Le (a+b-) и Le (a-b+), в моче может наблюдаться невыделительство свойственного крови антигена. Относительно связи фенотипов спермы с группами крови по системе Le достоверных данных нет. Вообще же по этой системе возможны случаи, когда выделение содержит один или оба антигена, отсутствующие в крови. Если по делу проходит несколько невыделителей, то по пятнам спермы, слюны и мочи иногда можно исключить по системе Le принадлежность выделений определенному лицу. Группу Le можно использовать и у выделителей на предмет дифференцировки возможного индивидуального происхождения выделений.

ХОД ИССЛЕДОВАНИЯ

Установив в поступившем на экспертизу объекте наличие того или иного выделения и определив его видовую принадлежность, эксперт проводит дальнейшее исследование на предмет выявления категории выделительства и групповых антигенов.

Перед началом исследования надо обеспечить получение образцов выделений и крови от подозреваемого, потерпевшего или трупа.

Для определения категории выделительства лучше всего служит слюна. Туаги и соавторы (1970), исследуя слюну выделителей, определили в ней очень высокий титр антигена В в 64% случаев, антигена А — в 44% и антигена Н — в 25% случаев. Если нет возможности взять слюну у подозреваемого в судебно-медицинской лаборатории, надо подробно проинструктировать следователя о порядке взятия и пересылки слюны. Слюну обычно доставляют на экспертизу высушенной на марле. Одновременно присылают образец крови на марле. В редких случаях присылают жидкую слюну. Ее следует доставить эксперту возможно быстрее, так как при хранении в течение нескольких дней антигены в ней разрушаются.

При исследовании жидкой слюны надо считаться с тем, что в нативном виде она будет агглютинировать эритроциты всех групп системы АВН. Это явление обусловлено присутствием муцина (Matsuzawa et al., 1972). Поэтому Ргокор и соавторы (1975) подчеркивают, что

для правильного определения группы необходимо готовить различные разведения слюны, поскольку таким путем удастся исключить возможность получить неспецифические результаты.

Учитывая быстрое разрушение антигенов в слюне, эксперты обычно предпочитают исследовать ее, когда она находится в виде пятен. Для этого полученную жидкую слюну центрифугируют, наносят на марлю и высушивают при комнатной температуре и рассеянном свете.

Для установления групповой принадлежности антигенов системы АВ0(Н) в выделениях можно применять любой из следующих 3 реагентов: изосыворотки α и β , иммунные слюнные сыворотки анти-А и анти-В и иммунные эритроцитарные сыворотки анти-А и анти-В.

Наиболее целесообразно использовать изосыворотки α и β и иммунные слюнные сыворотки анти-А и анти-В. Агглютинины α и β и анти-А и анти-В этих реагентов интенсивно абсорбируются антигенами выделений. С помощью этих сывороток хорошо открывается групповая принадлежность выделений у выделителей и у слабых выделителей. Данные сыворотки целесообразно использовать в титре 1 : 32 (кратное титрование) в реакции абсорбции в количественной модификации. В тех случаях, когда с титром сыворотки 1 : 32 антиген открывается слабо, можно применять эти реагенты, используя более низкий титр 1 : 16 (развернутое титрование).

Что же касается иммунных эритроцитарных сывороток анти-А и анти-В, то их тоже можно применять, но лишь в тех случаях, когда следы выделений хорошо выражены и происходят от выделителя. В тех же случаях, когда следы выделений выражены слабо, агглютиногены в них могут и не обнаружиться. То же самое иногда происходит, если выделение принадлежит слабому выделителю. Это объясняется тем, что агглютинины анти-А и анти-В слабее абсорбируются агглютиногенами выделений. Это свойство обычно используют, когда бывает необходимо дифференцировать выделителей от слабых выделителей. Антигены у слабых выделителей иммунной эритроцитарной сывороткой анти-А и анти-В, как правило, не выявляются, в то время как изосыворотками и иммунными слюнными сыворотками их можно обнаружить. Чаще всего в практической работе эксперты используют более доступные изосыворотки α и β . Однако надо иметь в виду, что при неблагоприятном

воздействи
нять имм
вержены

С раз
шанной а
можность
невывели
модифика
имно до

Для о
лений цел
при доста
реакцию а
чем выявл
тельства.

(разверну
(1—2 сту
сорбцию с
вернутое т
ными эрит
то к матер
кой, можн
следует до
ку анти-А
такте с сь
данного м
сорбции —
екта.

Если м
абсорбции
ции абсорб
ка, которая
количестве

В тех с
ло, что ег
ции — элю
цией, а кат

(у живого
Как уж
навливают
нами слюн
В случае н
от слабого
1 : 16 и им

воздействии предмета-носителя целесообразно применять иммунные слюнные сыворотки, которые менее подвержены влиянию загрязненных предметов-носителей.

С развитием реакции абсорбции — элюции и смешанной агглютинации эксперты получили большую возможность определять антигены в выделениях даже у невыделителей. Реакция абсорбции в количественной модификации и реакция абсорбции — элюции могут взаимно дополнять друг друга.

Для определения групповой принадлежности выделений целесообразно придерживаться следующей схемы: при достаточно больших следах выделений применяют реакцию абсорбции в количественной модификации, причем выявляют антиген и определяют категорию выделения. Сыворотки α и β должны иметь титр 1 : 32 (развернутое титрование). При невыявлении антигена (1—2 степени поглощения) применяют повторную абсорбцию с той же сывороткой, но с титром 1 : 16 (развернутое титрование). Если работу проводили с иммунными эритроцитарными сыворотками анти-А и анти-В, то к материалу, который был в контакте с этой сывороткой, можно добавлять изосыворотки α и β . Однако не следует добавлять иммунную эритроцитарную сыворотку анти-А и анти-В к материалу, который был в контакте с сыворотками α и β . Если антигены с помощью данного метода не выявляются, применяют реакцию абсорбции — элюции, взяв для этого новый участок объекта.

Если материал полностью израсходован в реакции абсорбции в количественной модификации, то для реакции абсорбции — элюции берут одну нить из того кусочка, который был использован в реакции абсорбции в количественной модификации.

В тех случаях, когда пятно выделений настолько мало, что его может хватить лишь на реакцию абсорбции — элюции, следует ограничиться только этой реакцией, а категорию выделения определять по крови (у живого человека) и по желчи (у трупа).

Как уже было указано, выделение обычно устанавливают по слюне. Исследование производят с пятнами слюны, используя изосыворотки с титром 1 : 32. В случае необходимости дифференцировать выделителя от слабого выделителя вводят изосыворотки с титром 1 : 16 и иммунные эритроцитарные сыворотки с тем же

титром. При этом проводят развернутое титрование. Как правило, изосыворотки с таким титром позволяют открывать антигены у слабых выделителей. Иммунные эритроцитарные сыворотки их не открывают.

Yada и соавторы (1970) иммунизировали кроликов слюной выделителей групп А и В, полученные сыворотки абсорбировали концентрированной слюной выделителей групп А, В и 0. Эти сыворотки хорошо выявляли антигены А и В в пятнах слюны способом электропреципитации. Их удавалось определить и в пятнах слюны, содержащих примесь крови. Со слюной невыделителей и выделителей группы 0 получался отрицательный результат.

В некоторых случаях приходится определять групповую принадлежность жидких выделений. В жидком виде большинство выделений гемолизует эритроциты, поэтому объект разводят изотоническим раствором хлорида натрия из расчета 1 : 1. Берут 4 ряда пробирок. В первых двух рядах готовят разведения испытуемого объекта 2, 4, 8, 16, 32, 64. Для этого во все пробирки, кроме первой, помещают по 2 капли объекта. Затем в первую пробирку первого ряда вносят 2 капли сыворотки α в титре 1 : 32, тщательно перемешивают и 2 капли переносят в разведение 4 и т. д. Из разведения 1 : 64 две лишние капли удаляют. Так же поступают с сывороткой β , внося ее в пробирки второго ряда. В третьем и четвертом рядах готовят разведения от 2 до 64 сывороток α и β изотоническим раствором. Во все пробирки всех четырех рядов добавляют соответственно по 1 капле 1% взвеси стандартных эритроцитов А и В. Пробирки центрифугируют в течение 4 мин при 2500—3000 об/мин, встряхивают и учитывают результат под микроскопом.

Можно несколько видоизменить методику: разведения объекта и сывороток переносят на плоскость (тарелку, пластинку и др.), добавляют соответственно отмытые эритроциты и покачивают. Учет ведут с лупой в условиях яркого электрического освещения.

В пятнах слюну исследуют следующим образом. Кусочек материала, взятый из области пятна, заливают сывороткой. Обычно берут 50 мг объекта и 0,3 мл сыворотки.

Сыворотки α и β применяют в титре 1 : 32, для чего готовят кратные разведения 1 : 2, 1 : 4 и т. д. до 1 : 64.

Для этого в каждую пробирку, кроме первой, вносят пастеровской пипеткой по 2 капли изотонического раствора хлорида натрия, выдувают из пипетки оставшуюся жидкость, вытирают ее и набирают сыворотку. В первую пробирку, где нет изотонического раствора, вносят 2 капли сыворотки и 2 капли — во вторую.

Таким образом, получается разведение сыворотки 1:2, из которого готовят все остальные разведения. Из последней пробирки 2 капли выбрасывают. В каждую пробирку с сыворотками добавляют по 1 капле 1% взвеси стандартных эритроцитов, смеси центрифугируют в течение 4 мин при 2500 об/мин, пробирки встряхивают 4 раза с одинаковой силой. Учет ведут, микроскопируя объект, находящийся на предметном стекле под покровным. Агглютинацию, видимую макроскопически, обозначают \oplus ; видимую микроскопически $+$, если большинство эритроцитов склеено в крупные конгломераты; $+$ —, если видны менее крупные конгломераты на фоне большинства несклеенных эритроцитов; — $+$, если имеется небольшое количество конгломератов, состоящих из 2—5 склеенных эритроцитов на фоне несклеенных эритроцитов; \mp , если видны отдельные конгломераты из 2 и 3 эритроцитов на фоне несклеенных эритроцитов при отсутствии агглютинации; —, если агглютинация эритроцитов полностью отсутствует.

Для учета степени агглютинации осторожно надавливают на покровное стекло. При этом истинные агглютинаты четко отличаются от простого склеивания эритроцитов. Если какой-либо антиген выявляется слабо, необходимо данные навески залить повторно той же сывороткой, но уже в титре не 1:32, а 1:16. Для приведения к титру 1:16 применяют развернутое титрование. Ряд пробирок надписывают: Н (неразведенная) 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 10, 12, 14, 16, 20. Далее титруют по схеме (указано число добавляемых капель):

Номера пробирок	Н	2	3	4	5	6	7	8	10	12	14	16	20
Изотонический раствор хлорида натрия, число капель		2	2	2	4	2	6	2	2	2	2	2	2
Сыворотки, число капель		2	1	1	1								

Затем из 2-й пробирки переносят 2 капли в 4-ю, из 4-й — 2 капли в 8-ю, из 8-й — 2 капли в 16-ю, из 13-й пробирки — 2 капли в 6-ю, из 6-й — 2 капли в 12-ю, из 5-й — 2 капли в 10-ю, из 10-й — 2 капли в 20-ю, из 7-й — 2 капли в 14-ю. Далее учет можно вести с лупой на плоскости с однократно отмытыми эритроцитами при ярком электрическом освещении. Из каждого разведения смесь переносят на фарфоровые тарелки или стекла, добавляют эритроциты из расчета 1 : 10 и смешивают. Учет ведут в течение 5 мин при постоянном покачивании тарелки.

Учет можно вести и в пробирках. Во все пробирки вносят по 2 капли смеси, добавляют по 1 капле 1% взвеси эритроцитов, центрифугируют и далее поступают так же, как и при учете с кратным титрованием.

При нечетком выявлении антигена в реакцию, кроме того, вводят несколько серий сывороток и исследуют разные участки пятна выделения.

Если на сыворотки влияет предмет-носитель, применяют «нагрузку» агглютинидами. Для этого объекты вновь заливают теми же сыворотками в тех же титре и объеме. Если влияние предмета-носителя не устранено, можно применить сыворотку с более высоким титром, что в некоторых случаях помогает устранить неспецифическое влияние.

Один из методов «нагрузки» заключается в повторной заливке объектов сывороткой, но соотношение между количествами сыворотки и объектом изменяют, например 50 мг материала и 0,2 мл сыворотки.

Особенно важно учитывать возможность влияния предмета-носителя, когда имеют дело с незначительными следами выделений. В таких случаях, прежде чем приступить к исследованию пятна, необходимо обеспечить надлежащий подбор сывороток.

Я. С. Познанский (1955) рекомендует заливать кусочки, взятые из предмета-носителя, неразведенными сыворотками α и β , а также серией разведений их до 1 : 32. Используют ту сыворотку, у которой титр после контакта с предметом-носителем равен 1 : 32, заливают ею объект и контрольные участки и проводят реакцию абсорбции. Недостатком данной методики является то, что она требует довольно продолжительного времени, а также относительно большого количества материала и сывороток.

Суше
ции. В. И.
лагают
агглютин
очень м
сыворотк
дартным
вают по
при набл
Г. А.
цию реак
вания пят
чение 24
2 или 4 к
шими кус
вороток.
эритроцит
вороткой.
1 : 2, беру
где имеетс
разведений
1 каплю н
В связ
ции не на
В. И.
ровать сыв
работы с
учитывать
дает возмо
абсорбиров
этом обес
поскольку
нации и ес
вороток.
Вообще
ти-В есть
имеет место
большим ди
делениями,
носителя. И
изосыворотк
ниях (метод
при ярком э
Кроме то
8 Заказ № 2898

Существуют и другие модификации реакции абсорбции. В. Н. Краинская-Игнатова и соавторы (1930) предлагают проводить качественную реакцию абсорбции агглютининов, удобную в тех случаях, когда имеется очень мало исследуемого материала. Абсорбированные сыворотки на предметных стеклах испытывают стандартными эритроцитами. Наличие антигена устанавливают по полному поглощению агглютинина сыворотки при наблюдении в течение 1 ч.

Г. А. Прейсман (1957) рекомендует свою модификацию реакции абсорбции, тоже пригодную для исследования пятен малого размера. Абсорбцию проводят в течение 24 ч в холодильнике, заливая 5 или 10 мг объекта 2 или 4 каплями сывороток. Можно работать и с меньшими кусочками объекта, уменьшив при этом объем сывороток. В этом случае 1 каплю взвеси стандартных эритроцитов вносят в пробирку, где материал залит сывороткой. Из пробирки, в которой сыворотка разведена 1:2, берут 1 каплю и наносят на предметное стекло, где имеется 1 капля стандартных эритроцитов, получая разведения сыворотки 1:4, с этого стекла переносят 1 каплю на следующее и т. д.

В связи с малой чувствительностью эти модификации не нашли широкого применения в практике.

В. И. Чарный (1958) предложил разводить и титровать сыворотки на стеклах, что особенно удобно для работы с иммунными сыворотками, так как позволяет учитывать результат реакции микроскопически. Способ дает возможность одновременно титровать сыворотки, абсорбированные пятном и предметом-носителем. При этом обеспечивается большая точность исследования, поскольку создаются одинаковые условия для агглютинации и есть возможность сравнивать разведения сывороток.

Вообще слюнные иммунные сыворотки анти-А и анти-В есть смысл использовать во всех случаях, когда имеет место влияние предмета-носителя. Они обладают большим диапазоном действия, хорошо работают с выделениями, меньше подвергаются влиянию предмета-носителя. Иммунные сыворотки разводят так же, как изосыворотки с титром 1:16, т. е. в смежных разведениях (методика описана выше). Учет проводят с лупой при ярком электрическом свете.

Кроме того, при влиянии предмета-носителя можно

уменьшить срок абсорбции до 2 ч. Целесообразно применять также повторную элюцию антител, причем на плоскости, а не в пробирках, и в изотонический раствор, а не во взвесь эритроцитов. При сильно загрязненных предметах-носителях методом экстрагирования можно перенести пятно на марлю. В ряде случаев применяют втирание объекта в увлажненный предмет-носитель (ниточки марли).

Прежде чем приступить к исследованию слюны, надо проверить кровь подозреваемого и потерпевшего, выяснить их антигенную принадлежность. Если с тем или иным образцом слюны (или крови) реакция абсорбции в количественной модификации дает нечеткие результаты, следует применить более чувствительную реакцию абсорбции — элюции (см. далее).

Исследование агглютиногена Н в присланных образцах выделений обязательно производят во всех случаях, когда у лиц, у которых взяты образцы, имеется в крови группа 0, а также когда агглютиногены А и В не обнаружены. Агглютиноген Н следует выявлять также на вещественных доказательствах. Категорию выделительства лучше всего определять сывороткой анти-Н или экстрактами из семян бобовника Ватерера, либо бузины травянистой. Экстракт из семян ракитника сидячелистного в таких случаях не применяют ввиду его высокой активности. Агглютиноген Н в выделениях лучше всего устанавливать параллельно двумя реагентами: сывороткой анти-Н и экстрактом анти-Н, учитывая, что последний меньше подвержен влиянию предмета-носителя. Если материал вещественного доказательства имеется в достаточном количестве, исследование проводят растительным экстрактом и сывороткой, если же материала мало, то ограничиваются лишь экстрактом (при условии, что при исследовании образцов получен положительный результат). Титрование сыворотки анти-Н проводят в смежных разведениях. Для определения агглютиногена Н пользуются реакцией абсорбции агглютининов в количественной модификации. Для этого берут 50 мг материала объекта и 0,3 мл сыворотки. Титр сыворотки 1 : 12—1 : 16. Учет результатов ведут на плоскости при ярком электрическом освещении.

При работе с экстрактами их готовят в соответствии с инструкцией, приложенной к каждой серии семян. Экстракты титруют так же, как и сыворотку анти-Н.

Анти
ции — э
М. И
типов с
случаях,
относитс
в присл
которых
Катер
фермент
фатазе с
группой
данного
вод о вы
Щело
описал Е
наружил
зоной α-
Boyer
точной ф
Е, F. Из
здоровых
менности,
Arfors
обусловле
цию меж
тазы и си
Beskm
сывороточ
По его н
отсутствуе
лителей. С
изводят м
В случ
делительст
можно про
или по кан
дования ис
том следу
таться нео
выделения
вания не в
делить на
путем уста
8*

Антиген Н можно также выявлять реакцией абсорбции — элюции, применив лектин анти-Н с титром 1 : 128.

М. И. Потапов (1973) на основании изучения фенотипов слюны по системе Льюиса рекомендует во всех случаях, когда слюна на вещественном доказательстве относится к той же группе по системе АВ0, что и кровь в присланных образцах, исследовать фенотипы лиц, от которых были взяты образцы.

Категорию выделительства можно определять и по ферментным системам, в частности по щелочной фосфатазе сыворотки крови. Имеющаяся корреляция между группой этого фермента и наличием или отсутствием у данного лица группы Le ($a+b-$) позволяет делать вывод о выделительстве или невыделительстве.

Щелочную фосфатазу в сыворотке крови впервые описал Estborn в 1959 г. Методом электрофореза он обнаружил одну зону активности, расположенную между зоной α -глобулина и гаптоглобиновой фракцией.

Boyer (1961) описал 6 фракций щелочной сывороточной фосфатазы, обозначив их буквами А, В, С, D, Е, F. Из них фракции С и F присутствовали в крови здоровых людей, зоны А, В и D появлялись при беременности, а зона Е встречалась редко.

Arfors и соавторы (1963) установили генетическую обусловленность данного фермента и строгую корреляцию между группами щелочной сывороточной фосфатазы и системой АВ0.

Вескман (1964) описал корреляцию между группой сывороточной щелочной фосфатазы и системой Льюиса. По его наблюдениям, одна из групп фермента (Pr2) отсутствует у людей с группой Le ($a+b-$), т. е. невыделителей. Определение группы щелочной фосфатазы производят методом электрофореза.

В случае необходимости определение категорий выделительства и установление групповой принадлежности можно производить не только по слюне, но и по сперме или по какому-либо другому выделению. Техника исследования используется та же, что и для слюны, но с учетом следующих особенностей. В практике может встретиться необходимость определять групповые антигены в выделениях трупа. Взять у трупа образцы для исследования не всегда удастся. Также не всегда удастся определить на трупе категорию выделительства и по крови путем установления группы по системе Льюиса, поскольку

ку, как показал М. И. Потапов (1973) на примере населения Москвы, группу крови Le (a—b—) имеет лишь 11,9% людей (сыворотки Le^c и Le^d у нас пока еще не выпускаются).

В таких случаях единственным источником для определения категории выделительства на трупе может служить моча, а если мочевого пузыря пуст, то желчь, которая почти всегда в том или ином количестве содержится в желчном пузыре трупа.

С этой целью Т. М. Масис (1971) разработала соответствующую методику, которая внедрена в практику [Методические указания по определению групп изосерологической системы АВ0 в следах выделений (слюна, сперма) методом абсорбции—элюции при помощи изосывороток α и β (Министерство здравоохранения СССР, 1975)]. В основу метода положена задержка агглютинации с изосыворотками α и β , а также с иммунной сывороткой анти-Н и с экстрактом анти-Н из плодов бузины травянистой. Определение категории выделительства проводят либо с жидкой желчью, либо с вытяжками из пятен. Предварительно проверяют групповую принадлежность трупа по крови (по системе АВ0). Из исследуемого объекта (желчи) готовят ряд разведений изотоническим раствором хлорида натрия до 1:2048 и в каждую пробирку к 2 каплям разведения добавляют по 1 капле сыворотки α (для определения группы А) и по 1 капле сыворотки β (для определения группы В). Для определения группы АВ берут двойной ряд пробирок, к каждому разведению желчи в первом ряду добавляют сыворотку α и во втором ряду—сыворотку β . Сыворотки титруют на плоскости, титр их 1:32. Смеси оставляют на 1 ч при комнатной температуре, после чего из каждого разведения их переносят на плоскость и добавляют соответствующие отмытые эритроциты групп А и В. Учет ведут с лупой при ярком электрическом освещении, постоянном покачивании в течение 5 мин. Если задержка агглютинации наблюдается с разведением 1:32 и выше, это значит, что желчь происходит от выделителя; если задержка реакции агглютинации отсутствует или же наступает только при разведениях 1:2 либо 1:4, это указывает на то, что желчь принадлежит невыделителю (разведения 1:8 и 1:16 не должны учитываться при установлении категории выделительства).

Если у эксперта имеется желчь, полученная от человека с группой крови 0, или жидкая моча, исследование проводят следующим образом: экстракты и сыворотку в титре 1 : 64—1 : 256 и 1 : 16 (сыворотка анти-Н) разводят до конечного титра, к 1 капле сыворотки или экстракта добавляют 2 капли исследуемого объекта (во избежание гемолиза и кислотной агглютинации желчь предварительно разводят 1 : 4—1 : 8, мочу исследуют в неразведенном виде). Дальнейший ход реакции см. ранее. Таким же способом разводят изотоническим раствором введенные в реакцию сыворотки и экстракт для установления их исходного титра в реакции задержки агглютинации. Задержка агглютинации с мочой и желчью на 4-й ступени и более свидетельствует о выделительстве, задержка на 1—2-й ступени — об отсутствии такового. Задержка на 3-й ступени не может служить основанием для суждения о категории выделительства.

Все используемые реагенты должны быть тщательно проверены. Одновременно в реакцию вводят контрольные вытяжки желчи и мочи от лиц с известной групповой характеристикой крови. Давность контрольных образцов выделений должна быть не более 1 года.

Экстрагирование проводят, добавляя к 100 мг пятна желчи или мочи 0,6 мл изотонического раствора, экстрагируют в течение 18—20 ч при 4—6°C.

Категорию выделительства можно определять, кроме того, по пятнам мочи. Однако необходимо иметь в виду, что давать какую-либо оценку можно только по положительному результату, ибо эксперт никогда не может быть уверен, какому влиянию подвергался предмет-носитель.

М. Ф. Верещака и соавторы (1975) предложили определять категорию выделительства по перикардальной жидкости, для чего извлекают 3—5 мл крови из сердца и все содержимое сердечной сорочки. Кровь высушивают на марле при комнатной температуре, а перикардальную жидкость центрифугируют в течение 15 мин при 8000 об/мин. Надосадочный слой отсасывают и титруют 1% взвесью эритроцитов групп А и В (для определения титра агглютининов). Далее осадок из перикардальной жидкости и надосадочную жидкость высушивают на марле. Методами абсорбции — элюции и абсорбции в количественной модификации исследуют

абсорбционную способность антигенов А, В и Н в пятнах крови, надосадочной жидкости и осадка перикардальной жидкости. У выделителей антигены хорошо определяются обоими способами в надосадочной жидкости и в осадке. У невыделителей антигены определяются только в осадке и только с помощью метода абсорбции — элюции.

Данный метод позволяет уверенно судить о категории выделения у трупов.

Помимо реакции абсорбции в количественной модификации для определения групповых антигенов в следах выделений применяют также реакцию абсорбции-элюции. Последняя является значительно более чувствительной и позволяет обходиться весьма малым количеством исследуемого материала.

Siracusa (1923) впервые предложил реакцию абсорбции — элюции для исследования крови. В дальнейшем эту реакцию неоднократно модифицировали. Ее успешно применяли и для определения группы в выделениях (Т. М. Масис и др., 1975; Pereira, 1973). Для постановки реакции с одной сывороткой достаточно одной нити материала длиной 5—6 мм. Если извлечь отдельную нить не удастся, вырезают кусочек материала размером $0,2 \times 0,2$ см.

Следы, находящиеся на невсасывающей поверхности (камень, металл, дерево и др.), можно снять на марлю, смоченную дистиллированной водой. Во всех подобных случаях обязательно проводят контрольное исследование, для чего другим куском марли, смоченным в дистиллированной воде, протирают поверхность объекта вблизи от исследуемого следа. Для проведения реакции требуются 2 нити из марли, которой протирали след, и 2 нити из марли, которой проводили контроль.

Техника реакции. С целью фиксирования антигенов в объекте исследуемый материал кипятят в дистиллированной воде с рН 7,4 в течение 10 мин. Затем к каждой нити добавляют по 2 капли сыворотки α и β в титре 1:256—1:512 и абсорбируют в течение 20 ч при температуре 4—6°C. В некоторых случаях при сильно выраженном антигене срок абсорбции можно сократить до 2 ч. Если имеется соответствие антигена и антитела, они взаимно абсорбируются. Избыток сыворотки, не прореагировавший с антигеном, шестикратно отмывают охлажденным изотоническим раствором.

Второй фазой является реакция элюции. Она может осуществляться изотоническим раствором или 2% взвесью эритроцитов в изотоническом растворе. В обоих случаях смеси выдерживают в термостате в течение 20—25 мин при 56°C. При этом происходит распад комплекса антиген — антитело, свободные антитела переходят в раствор.

Третья фаза реакции — выявление элюированных антител. Если во второй фазе элюировали в изотонический раствор, то добавляют взвесь эритроцитов А и В и центрифугируют в течение 4 мин при 1500—2000 об/мин. Если же во второй фазе работали с взвесью эритроцитов, то ограничиваются только центрифугированием в течение этого же времени. При положительном результате с соответствующей сывороткой наблюдается образование агглютинатов. В зависимости от результатов судят о присутствии того или иного антигена.

Реакция абсорбции — элюции очень чувствительна. Тем не менее, когда антигены слабо выражены, требуется повысить ее чувствительность. Это достигается следующим образом: после абсорбции отсасывают сыворотку и прибавляют к исследуемому объекту новую порцию этой же сыворотки в том же объеме и титре. Через определенное время, необходимое для абсорбции, сыворотку отсасывают и проводят следующий этап исследования. Такая методика имеет преимущества. Известно, что не все антитела одинаково быстро и полно вступают во взаимодействие с антигенами, и это зависит как от преобладания какого-либо типа иммуноглобулинов в сыворотке, так и от авидитета иммуноглобулинов. Абсорбция соответствующих ингредиентов происходит при первичном контакте сыворотки с антигеном. Однако при этом исчерпываются не все возможности соединения антигена с антителом и при повторном добавлении сыворотки к объекту с антигеном оказывается соединенным большее количество антител. При последующем этапе — элюции, при распаде комплекса антиген — антитело, естественно, антител отделяется больше и реакция их при контакте с эритроцитами бывает выражена более четко. В ходе реакции в ряде случаев требуется большее число отмываний. Все исследования следует проводить при постоянном контроле предмета-носителя. М. С. Свирский (1969), а также Palatnik и соавторы (1970) рекомендуют определять групповые антиге-

ны в выделениях методом смешанной агглютинации, применяемым при исследовании крови. То же предлагает Т. В. Стегнова (1976).. Однако Schulz (1974) отметил, что реакция смешанной агглютинации не годится для определения категории выделения.

Если эксперт пользуется методами абсорбции — элюции и смешанной агглютинации, он всегда должен учитывать, что агглютиногены выделений обладают высокой абсорбционной способностью и поэтому обоими этими способами не всегда удается определить групповую принадлежность, поскольку фаза элюции абсорбированных антител не наступает и добавленные стандартные эритроциты не агглютинируются.

Во избежание ошибки проводят пробу на полноту истощаемости: к 1 капле абсорбированной сыворотки [(из пятна и предмета-носителя) добавляют 1 каплю взвеси соответствующих эритроцитов, центрифугируют в течение 4 мин при 1000 об/мин, встряхивают и учитывают под микроскопом. Если агглютинация наблюдается в сыворотке, бывшей в контакте с предметом-носителем, и не наблюдается в сыворотке, бывшей в контакте с пятном, можно сделать вывод об обнаружении антигена, не проводя дальнейших исследований.

При меньшей абсорбционной способности антигенов их обычно удается открыть методом абсорбции — элюции и смешанной агглютинации. При сильной абсорбционной способности антигенов надо брать для исследования меньшее количество объекта и сократить время абсорбции (иногда до 2 ч).

Методы абсорбции — элюции и смешанной агглютинации дают хорошие результаты при исследовании пятен малой величины и в случаях влияния предмета-носителя на сыворотки. Если это влияние выражено сильно, можно прибегнуть к одному (или нескольким) из следующих приемов: взять сыворотки с более высоким титром или в большем объеме; провести однократно или многократно повторную элюцию антител из одних и тех же участков; повторно ввести в реакцию уже использованный материал, начиная с фазы абсорбции (можно взять сыворотку с более высоким титром и увеличить число отмываний); сократить время абсорбции; одинаковые по площади участки крови и предмета-носителя в отдельных пробирках залить равным объемом дистиллированной воды, полученные вытяжки (по отдельно-

сти) нанести на марлю, высушить при комнатной температуре и провести с ними реакцию абсорбции—элюции.

Большие затруднения возникают при работе со смешанными пятнами: смесью нескольких выделений, например слюны и пота, спермы и влагалищного секрета и др., а также смеси выделений с кровью. Одновременное присутствие в пятне разных биологических жидкостей (особенно если они принадлежат разным людям) может маскировать или искажать результаты реакции. В таких случаях, для того чтобы правильно оценить полученные данные, необходимо точно установить, что именно имеется в исследуемом объекте. Заподозрив наличие в пятне нескольких биологических жидкостей (например, если в нем открывается помимо антигена, свойственного проходящему по делу лицу, еще и какой-то другой антиген), эксперт должен прежде всего выяснить, не является ли это следствием неспецифического влияния предмета-носителя. В таких случаях не следует ограничиваться одним контрольным исследованием последнего, а надо сделать несколько вырезок вокруг пятна в непосредственной близости от него. Убедившись в отсутствии влияния предмета-носителя, эксперт приступает к дифференцированию антигенов крови и выделений.

Для дифференцирования антигенов крови от антигенов выделений можно использовать то обстоятельство, что антигены в выделениях (слюне, сперме) сильнее выражены, чем антигены крови. Исходя из этого, можно применить сыворотку с титром не менее 1 : 512—1 : 1024. Предварительно с этой сывороткой исследуют образцы крови и выделений подозреваемого и потерпевшего, чтобы убедиться, что с данным титром она открывает только антигены выделений. Затем приступают к исследованию вещественных доказательств. При этом будут открываться антигены, происходящие только от выделений.

Интерес представляет метод, предложенный М. С. Свирским (1970). Он прогревал смешанные пятна крови со спермой (в сухом виде) в термостате при 110°C в течение 1½ ч, экстрагировал их изотоническим раствором, из вытяжки готовил пятно на марле, высушивал при комнатной температуре и исследовал методом абсорбции—элюции. При этом открывались лишь антигены спермы, так как антигены крови после ука-

занной обработки не экстрагировались, хотя и сохраняли абсорбционную способность, обнаруживаемую реакцией абсорбции в количественной модификации.

При экспертизе смешанных пятен следует давать развернутое заключение, приводя все возможные варианты происхождения обнаруженных антигенов. Приведем примеры.

В пятнах на одежде гр-ки Д., подвергшейся изнасилованию, обнаружена сперма. Гр-ка Д. относится к группе В с сопутствующим антигеном Н и является выделителем вышеперечисленных антигенов. Подозреваемый тоже относится к группе В с сопутствующим антигеном Н и является выделителем. В пятне спермы на вещественном доказательстве выявлены антигены В и Н.

В заключение следует указать, что данные антигены могли произойти: 1) от спермы человека с группой В с сопутствующим антигеном Н; 2) от двух и более людей с группой В и Н; 3) от выделений влагалища самой потерпевшей. В этом случае сперма может принадлежать невыделителю любой группы системы АВ0.

На одежде изнасилованной женщины в смешанных пятнах крови и спермы найден антиген В. Пострадавшая относится к группе В и является выделителем. Подозреваемый тоже относится к группе В и принадлежит к категории выделителей.

В заключение следует указать, что антиген В мог произойти: 1) от спермы человека — выделителя группы В; 2) из влагалищных выделений и крови пострадавшей. В этом случае сперма может принадлежать невыделителю любой группы системы АВ0.

По делу об изнасиловании гр-ки К. была исследована ее одежда. Обнаружены смешанные пятна крови и спермы, содержащие антигены А и В. Пострадавшая относится к группе А и является выделителем данного антигена. Подозреваемый относится к группе В и принадлежит к категории выделителей.

Таким образом, сперма может принадлежать: 1) человеку с группой В, антиген А мог произойти из крови и выделений влагалища потерпевшей; 2) человеку с группой АВ; 3) нескольким людям с группами крови А и В.

Наряду с агглютиногенами в жидкостях организма содержатся и агглютинины (Iosida, 1928). Их можно определять теми же способами, что и в крови. Н. Ф. Иванова (1966) установила, что агглютинины в пятнах сохраняются не более 1 года, а иногда и меньше. Р. Г. Геньбом и соавторы (1973) выяснили, что агглютинины в сперме и слюне выражены несколько слабее, чем в крови. В пятнах, имевших давность происхождения 3 мес, они или совсем не выявлялись, либо выявлялись очень слабо.

Многие зарубежные авторы для определения антигенов в биологических жидкостях используют мелкие частицы латекса, сенсibilизированные групповыми ан-

тигенами. В частности, Yeh (1976) выявлял этим способом антигены АВН в жидкой слюне. Частицы латекса сенсibilизируют непрокипяченной слюной. Агглютинацию проводят при рН 3,5. Материалом для изготовления частиц служит стабильный в физико-химическом отношении латекс.

ОСОБЕННОСТИ ИССЛЕДОВАНИЯ НЕКОТОРЫХ ВЫДЕЛЕНИЙ

М. Ш. Колыш и соавторы (1974) предлагают определять антигены системы АВ0 в окрашенных мазках спермы методом абсорбции — элюции и смешанной агглютинации. Мазки спермы выделителей антигенов А и В высушивали, фиксировали 96° этанолом, окрашивали гематоксилин-эозином или кислым фуксином, просветляли ксилолом. На следующий день мазки заливали гемагглютинирующими сыворотками α и β с титром 1:256 или 1:512. Препараты помещали во влажные камеры. Абсорбировали в холодильнике при +4°С в течение 15 ч. Непрореагировавшие антитела удаляли путем отмывания изотоническим раствором хлорида натрия в течение 1½ ч, после чего к мазкам добавляли 0,2% взвесь соответствующих стандартных эритроцитов групп А и В с добавлением кроличьей сыворотки (с целью предупреждения прилипания эритроцитов к стеклам) и без нее. Учитывали через 1—2 ч с помощью фазово-контрастной микроскопии при увеличении 125—250 по трехбалльной системе. На протяжении всего времени учета препараты находились во влажных камерах.

Для определения группы в сперме можно использовать реакцию связывания агглютинина по методу Holzger (Mueller, 1975). При исследовании пятен спермы всегда надо считаться с возможной примесью влагалищных выделений. Для обнаружения последних иногда полезно бывает обратиться к помощи цитолога. Yada и соавторы (1975) указывают, что с помощью реакции абсорбции — элюции можно правильно определить групповые антигены спермы в пятне, содержащем примесь влагалищного секрета выделителя. Авторы использовали большие разведения вытяжек из пятна, после чего антигены влагалищного секрета уже не выявлялись, поскольку содержание их в выделениях влагалища значительно меньше, чем в сперме.

М. С. Свирский (1973) определял групповые антигены в потожировых отпечатках пальцев и ладоней методом абсорбции — элюции. Если имеются отчетливые следы, их сначала дактилоскопируют, а потом передают в судебно-медицинскую лабораторию для определения группы. Если же следы смазаны, то их сразу подвергают биологическому исследованию.

Neuschkel и соавторы (1975) успешно определяли антигены системы АВ0 на одежде в местах, где обычно бывает бóльшая концентрация, используя сыворотки с низким титром. При исследовании малых следов пота они применяли метод микроабсорбции (капельный). Пользоваться фитагглютинами Evonutis и бобовника для определения группы 0 авторы не рекомендуют, так как они отмечают, что при этом получаются ложные результаты.

Rees и соавторы (1975) пытались использовать гетерогенные свойства фосфоглюкомутазы для определения индивидуальной принадлежности спермы, взятой из влагалища женщины. Определению, как правило, мешало влияние секрета влагалища. Невозможно было определить тип фосфоглюкомутазы и в пятнах спермы, поскольку они обычно содержат примесь влагалищных выделений.

А. С. Гладких (1976) предложил определять в жидкой сперме и в ее пятнах группу фосфоглюкомутазы (ФГМ) и 6-фосфоглюконатдегидрогеназы (ФГД), причем ФГМ была выявлена в пятнах 8-недельной давности, а ФГД — в пятнах 2—3-недельной давности происхождения.

Обычно в сперме различают 3 группы ФГМ: 1,2; 1 и 2. В отношении ФГД у большинства людей отмечают одну зону активности, обозначаемую буквой А, реже — две зоны — А и В.

В ходе экспертизы спермы можно также использовать фермент — кислую эритроцитарную фосфатазу (ЭКФ). Этот фермент относится к гидролазам. Впервые он был открыт в крови в 1949 г. Abul-Fadi и соавторами. Генетическая обусловленность ее была доказана Норкинсон и соавторами (1963, 1964). Они обнаружили в крови 5 фенотипов ЭКФ: гомозиготные А и В и гетерозиготные АВ, АС и ВС. Кислая фосфатаза присутствует также в сперме и моче (Ostborn, 1959; Shulman et al., 1964; Oepen et al., 1971; Sujama et al., 1976).

Методом электрофореза в полиакриламидном геле выявляли до 20 фракций в сперме. В моче кислая фосфатаза выражена слабо.

В качестве группового антигена в следах можно также определять группы системы слюнной амилазы, которая присутствует во многих выделениях. Этот фермент генетически обусловлен, он вырабатывается слюнными железами и подъязычной железой. Различные количества его содержатся в большинстве выделений. Определение проводится методом электрофореза (Vasíková et al., 1973).

Собственные группы слюны. Кроме известных групповых антигенов, имеющих в слюне, крови и других биологических жидкостях, слюна содержит еще и собственные, не обнаруживаемые в других объектах групповые антигены.

В 1963 г. Mandel и соавторы обнаружили в слюне множественные протеины, в основном щелочные. В дальнейшем Majer и соавторы (1968) и Azen (1972) выявили в секрете околоушной железы до 40 протеиновых компонентов. Были установлены качественные и количественные различия белкового компонента в околоушных и подчелюстных слюнных железах, а также его способность изменяться под воздействием ферментов. Balakrishnan и соавторы (1971, 1974) отметили групповой полиморфизм протеинов слюны. Реакцией электрофореза в полиакриламидном геле они выявили 4 фенотипа и доказали генетическую обусловленность этого полиморфизма. В 1972 г. Azen описал еще одну систему протеинов P_b с 3 фенотипами. В настоящее время уже известно 7 систем слюны человека, посредством которых можно определять 21—23 группы. Обычно эти группы выявляют методом горизонтального или вертикального электрофореза в полиакриламидном или крахмальном геле, однако Balding и соавторы (1973) для этой цели использовали реакцию задержки гемагглютинации эритроцитов человека, применяя раствор гемагглютинирующих средств, выделенных из микроорганизма *Clostridium botulinum*.

Системы групп слюны, их индивидуальную принадлежность можно использовать в судебной медицине при разрешении вопроса о возможной принадлежности следов слюны определенному лицу. В настоящее время известен ряд таких систем.

Системы F и S. Они находятся в зоне, условно названной 4, где располагаются средней подвижности протеины — быстрая и медленная фракции. Отмечается 4 фенотипа: Fs, F, S и 0. Частота их встречаемости соответственно 50, 12, 32, 6%. Системы F и S наследуются независимо друг от друга. Предполагается существование двух локусов с доминантными и рецессивными аллелями. Локус Sol I имеет 2 гена — F и f, локус Sol II также имеет 2 гена — S и s. Данные системы синтезируются уже к моменту рождения ребенка. Связи между локусами Sol I и Sol II не обнаружено. Локус Sol II не связан с выделительством, в отношении же локуса Sol I такая связь, по-видимому, не исключается. Оба локуса не связаны с локусом системы ABO.

Система Pb. Эта система представляет собой комплекс щелочных протеинов, быстро движущихся к катоду в кислом геле с кислотным буфером, и располагающийся в конце фореграммы. В нем отсутствуют компоненты, идентичные амилазе, лизоциму, альбумину, иммуноглобулину A, а также локусы таких систем, как ABO, MNSs, Kell, Kidd, Lutheran, Duffy, Lewis, Se—se, Hp, Ff, Gc и Hr (p — цепь).

Система имеет 5 протеинов, обозначаемых буквами a, b, c, d и e. Они допускают 3 варианта сочетаний: abdc, adcde и c. Существует мнение, что наследование системы Pb идет по одному локусу с двумя кодоминантными аллелями Pb¹ и Pb², причем ген Pb¹ ответствен за комплекс abde, а ген Pb² — за c. В этой системе отмечено 3 фенотипа Pb: 1—1, 2—1, 2—2. Система Pb полностью трансформируется к рождению ребенка. Связи гена Pb с другими системами не отмечено. Яснее всего эти данные получены при исследовании слюны. Следует иметь в виду, что приведенные данные получены при исследовании секрета околоушной железы и с секретом подчелюстной железы. Исследование цельной слюны дает неясные результаты.

Система Pa. В нее входит лишь один гликопротеин, расположенный на фореграмме в отличие от предыдущего ближе всего к аноду. Имеется 2 фенотипа Pa и Pa—. Pa представлен одной черной полосой, окрашенной амидошварцем. Система хорошо выявлялась как в околоушной, так в подчелюстной железах и в цельной слюне. Этот гликопротеин содержит много пролина, глицина, глутаминовой, аспарагиновой кислот и около 1,5%

углеводов. Он наследуется простым доминантным наследованием. Связи с локусами других систем нет.

Система Sal Cb (название предложено М. И. Потановым и соавторами, 1977). Данный протеин открывается реакцией задержки агглютинации. В зависимости от наличия или отсутствия агглютинации выявлено 2 фенотипа выделителей и невыделителей данной субстанции. Протеин не связан с локусами других антигенов. Аналогичный гемагглютинин получен из бактерий *Clostridium botulinum* в 1972 г.

Система Pr. Название происходит от слов «Prolin rich» — обогащенная пролином. Система расположена между протеином системы Ра и амилазой. В ее компонентах много глицина, глутамина и аспарагина. Протеины этой системы расположены на 5 уровнях, обозначаемых х, 1, 2, 3, 4, причем уровни 2 и 3 на фореграмме разделены протеином системы Db и неидентифицированным уровнем 5. Минимальное количество полос на фореграмме 2, максимальное — 5. В систему входит 10 фенотипов: 4 основных (один гипотетический) и 6 производных. Она имеет один локус с четырьмя кодоминантными аллелями Pr^1 , Pr^1 , Pr^2 , Pr^2 . Основные фенотипы: $Pr\ 1-1$, $Pr\ 1-1$, $Pr\ 2-2$, $Pr\ 2-2$. Формируется система в раннем детстве. Имеется связь между Pr и Ра.

Система Db. Она состоит из двух полос протеинов, которые либо оба присутствуют (фенотип Db+), либо оба отсутствуют (фенотип Db-). Все описанные системы являются аутосомными. В отношении генетических групп слюны имеются указания на некоторые различия их у разных рас. Так, система Pb присуща в основном негроидам. Системы F, S, Pr слабо связаны с расовой принадлежностью, а системы Ра и Db отчетливо колеблются в зависимости от расы.

В жидкой моче и ее пятнах групповые агглютиногены можно обнаруживать реакцией абсорбции в количественной модификации. А. Г. Усачев (1942), Туаги и соавторы (1970) рекомендуют для этого вытяжки из пятен готовить на дистиллированной воде. По их данным, антигены в моче сохраняются в течение 1 месяца без уменьшения титра. Еще лучшие результаты дает реакция абсорбции — элюции. Для определения групповых антигенов в моче Прокоп и соавторы (1975) предлагают следующий способ: 50 мл мочи упаривают до объема нескольких миллилитров и диализируют против водо-

проводной воды через пергаментную пленку. Через несколько часов образуется осадок, который подвергают исследованию. Проще провести исследование групповой принадлежности с изотонической мочой, для чего к 100 мл мочи добавляют 1 г поваренной соли.

Меконий содержит групповые антигены, которые удастся выявить даже при резко выраженном гниении трупа (Prokor et al., 1975). Для этого отрезок толстой кишки с содержимым высушивают в эксикаторе под вакуумом, растирают в порошок и исследуют.

Определить группу крови в кале взрослых людей обычно не удастся вследствие наступления гемолиза стандартных эритроцитов, однако Nodio (1939) указывает, что иногда, хотя и очень редко, групповые антигены можно выявить в кале человека с помощью реакции преципитации. Prokor и соавторы (1975) рекомендуют использовать метод Kishno: к 1 капле кала добавляют 10—20-кратный объем 16° алкоголя, упаривают кипячением на водяной бане и добавляют трехкратный объем 98° алкоголя. Осадок высушивают и исследуют. В слезной жидкости Prokor и соавторы (1975) обнаруживали групповые антигены.

Ушная сера может иметь значение для криминалиста, например при идентификации владельца носового платка, на котором найдены ее следы. Yada и соавторы (1966) отчетливо определили методом абсорбции — элюции групповые антигены в ушной сере как у выделителей, так и у невыделителей. Интенсивность агглютинации несколько колебалась в зависимости от количества исследуемого материала. Авторы полагают, что наличие антигенов обусловлено присутствием клеточных элементов, примешанных к секрету наружного слухового прохода. Групповую принадлежность ушной меры определяли методом абсорбции — элюции также Tesař и соавторы (1973).

Иногда приходится определять половую принадлежность в пятнах слюны и мочи, причем предшествующее использование материала для определения вида и групповых антигенов не препятствует исследованию. Последнее проводится методом цитологии лицами, имеющими специальную подготовку.

Айдин
и
це
Алекс
и
Алекс
сл
сто
ре
Аржел
гли
экс
Аржел
кой
Аржел
нах
нал
с. 6
Асатиан
дем
Бабенко
моч
мун
Байер
нах.
диц
Балдин
новл
ного
Под
Баринов
нам
Баринов
кров
кума
Барсегян
но-ме
№ 4,
Барсегян
предм
экспер
Барсегян
Сборн
ков.
9 3

ЛИТЕРАТУРА

- Айдинян Р. А. К вопросу определения изменений микроэлементов и минерального равновесия организма в судебно-медицинских целях. — «Суд.-мед. эксперт.», 1962, № 2, с. 9—13.
- Алексеева В. И. Возможные сочетания фенотипов Lewis в крови и выделениях. — «Суд.-мед. эксперт.», 1976, № 2, с. 53—55.
- Алексеева В. И. Определение фенотипов системы Lewis в пятнах слюны, спермы и мочи в зависимости от физиологических состояний. — В кн.: 1-й Всесоюзный съезд судебных медиков. Под ред. В. М. Смольянинова. М., 1976, с. 499—500.
- Аржелас Л. К. К вопросу приготовления гетероиммунных гемагглютинирующих сывороток анти-Le^a и анти-Le^b. — «Суд.-мед. эксперт.», 1962, № 4, с. 37—42.
- Аржелас Л. К. Выявление агглютиногенов системы Льюис в жидкой крови. — «Суд.-мед. эксперт.», 1964, № 3, с. 28—30.
- Аржелас Л. К. Выявление агглютиногенов системы Льюис в пятнах мочи. — В кн.: Судебно-медицинская экспертиза и криминалистика на службе следствия. Вып. 5. Ставрополь, 1967, с. 606—609.
- Асатиани В. С. Биохимическая фотометрия. М., Издательство Академии мед. наук, 1957.
- Бабенко Г. А., Шабельник Д. Я. Установление принадлежности мочи от беременных женщин с помощью набора «Гравимун». — «Суд.-мед. эксперт.», 1974, № 2, с. 35—36.
- Байер А. Биохимическое доказательство наличия спермы в пятнах. — В кн.: Тезисы докладов 5-й Павловской сессии II Медицинского института. М., 1965, с. 29.
- Балдин Э. П. Сравнительное исследование пятен пота с целью установления их сходства или различия с пятнами пота определенного лица. — В кн.: 1 Всесоюзный съезд судебных медиков. Под ред. В. М. Смольянинова. М., 1976, с. 500—501.
- Барина Л. И. Серологическая диагностика беременности по пятнам мочи. — «Суд.-мед. эксперт.», 1974, № 2, с. 41—42.
- Барина Л. И. Серологическая диагностика беременности по пятнам крови с помощью отечественного препарата гравидиагностикума. — «Суд.-мед. эксперт.», 1975, № 3, с. 24—25.
- Барсегянц Л. О. Установление наличия слюны в пятнах при судебно-медицинских исследованиях. — «Суд.-мед. эксперт.», 1960, № 4, с. 26—30.
- Барсегянц Л. О. Обнаружение слюны в пятнах на загрязненных предметах-носителях и в следах с примесью крови. — «Суд.-мед. эксперт.», 1962, № 3, с. 34—38.
- Барсегянц Л. О. Установление наличия мочи в пятнах. — В кн.: Сборник трудов 4-й Всесоюзной конференции судебных медиков. Рига, 1962, с. 387—391.

- Барсегянц Л. О. Установление наличия пота в пятнах. — «Суд.-мед. эксперт.», 1964, № 3, с. 24—28.
- Барсегянц Л. О. Одновременное и совместное установление наличия и видовой принадлежности человеческой спермы. — «Суд.-мед. эксперт.», 1965, № 4, с. 31—36.
- Барсегянц Л. О. Одновременное совместное установление наличия и видовой принадлежности человеческой спермы. — В кн.: Актуальные вопросы судебной медицины и криминалистики. Труды Ленинградск. ГИДУВ. Вып. 49, Л., 1966, с. 142.
- Барсегянц Л. О. Установление наличия и видовой принадлежности человеческой спермы при помощи некоторых растительных экстрактов. — «Суд.-мед. эксперт.», 1967, № 1, с. 34—36.
- Барсегянц Л. О. К вопросу о реакции человеческой спермы с картофельным соком. — «Суд.-мед. эксперт.», 1967, № 4, с. 30—34.
- Барсегянц Л. О. Установление наличия и видовой принадлежности человеческой спермы при помощи некоторых растительных экстрактов (предварительное сообщение). — В кн.: Сборник трудов по судебной медицине и судебной химии. Вып. 3. Пермь, 1967, с. 345—348.
- Барсегянц Л. О. Установление наличия выделений из влагалища. — В кн.: Материалы 3-й расширенной научно-практической конференции судебно-медицинских экспертов Азербайджан. ССР, Баку, 1969, с. 204—209.
- Барсегянц Л. О. О роли реакции с соком из клубней картофеля в судебно-медицинской экспертизе спермы. — В кн.: Материалы 5-й Всесоюзной конференции судебных медиков. Т. 2. Л., 1969, с. 253—255.
- Барсегянц Л. О. К вопросу исследования спермы и слюны в одном и том же пятне. — «Суд.-мед. эксперт.», 1971, № 4, с. 30—32.
- Барсегянц Л. О. О возможности обнаружения спермы, мочи, слюны и пота в замкнутых и проглаженных пятнах. Сообщение 1. Обнаружение спермы в замкнутых пятнах. — «Суд.-мед. эксперт.», 1970, № 2, с. 21—25.
- Барсегянц Л. О. О возможности обнаружения спермы, мочи, слюны и пота в замкнутых пятнах. Сообщение 2. Обнаружение выделений в проглаженных пятнах. — «Суд.-мед. эксперт.», 1970, № 3, с. 45—47.
- Барсегянц Л. О. К вопросу исследования спермы и слюны в одном и том же пятне. — «Суд.-мед. эксперт.», 1971, № 4, с. 30—32.
- Барсегянц Л. О. К вопросу о влиянии различных заболеваний, приема лекарственных веществ и спиртных напитков на возможность обнаружения слюны и мочи в пятнах. — «Суд. мед. эксперт.», 1971, № 2, с. 30—32.
- Барсегянц Л. О. Определение видовой принадлежности пота. Сообщение 1. — «Суд.-мед. эксперт.», 1973, № 1, с. 18—22.
- Барсегянц Л. О. Определение видовой принадлежности пота. Сообщение 2. — «Суд.-мед. эксперт.», 1974, № 2, с. 33—35.
- Барсегянц Л. О. О тактике эксперта в некоторых особых случаях исследования слюны. — «Суд.-мед. эксперт.», 1975, № 3, с. 20—24.
- Бронникова М. А., Гаркави А. С. Методика и техника судебно-медицинской экспертизы вещественных доказательств. М., Медгиз, 1963.
- Бронникова М. А., Гаркави А. С. Развитие судебно-медицинской экспертизы вещественных доказательств в СССР. — «Суд.-мед. эксперт.», 1967, № 4, с. 3—7.

- Бронникова М. А. Судебно-биологическая экспертиза крови, выделений человеческого организма, волос и прочих объектов. — В кн.: Судебная медицина для юристов. Под ред. В. И. Прозоровского. М., Юридическая литература, 1968, с. 295—338.
- Бронникова М. А., Масис Т. М. О развитии изосерологической системы Льюис у человека. — В кн.: Вопросы судебной медицины. Под ред. В. И. Прозоровского. М., «Медицина», 1968, с. 235—242.
- Васильев М. А. Некоторые данные о спектрографическом дифференцировании пятен крови и некоторых выделений человека. — В кн.: Материалы к научной конференции по теме — спектрографические методы исследования в биологии и медицине. Горький, 1967.
- Варшавский С. И. Содержание гиалуронидазы в смешанной слюне у школьников. — «Стоматология», 1963, № 2, с. 25—29.
- Верещака М. Ф., Порядина С. И. Исследование перикардальной жидкости трупов для определения категории выделения. — «Суд.-мед. эксперт.», 1975, № 3, с. 25—27.
- Виноградов В. Н., Туманов А. К. Применение флуоресцентной микроскопии для установления наличия спермы в пятнах. — В кн.: Рефераты докладов Харьковской конференции. Вып. 4. Харьков, 1956.
- Геньбом Р. Г., Асадчих Н. П. О наличии и сохраняемости антител системы АВ0 в слюне и сперме. — «Суд.-мед. эксперт.», 1973, № 2, с. 30—31.
- Гладких А. С., Гадакян Д. Г. Возможность обнаружения семенных пятен без нахождения в них сперматозоидов. Сообщение 1. — «Суд.-мед. эксперт.», 1974, № 3, с. 28—30.
- Гладких А. С. Ферментные системы спермы: фосфоглюкомутазный и 6-фосфоглюконатдегидрогеназный полиморфизм. — В кн.: 1-й Всесоюзный съезд судебных медиков. Под ред. В. М. Смольянинова. М., 1976, с. 496—498.
- Губин Н. М. Определение химического состава спермы и некоторых выделений человека методом эмиссионного спектрального анализа. — В кн.: Сборник трудов Всесоюзной конференции судебных медиков. Рига, 1962, с. 378—378.
- Губин Н. М. Диагностика пятен спермы спектрографическим путем. — «Суд.-мед. эксперт.», 1963, № 3, с. 10—13.
- Губин Н. М. О содержании натрия и калия в семенной жидкости, моче и влагалищных выделениях, а также в их пятнах. — В кн.: Труды судебно-медицинских экспертов Украины. Киев, «Здоровье», с. 177—186.
- Губин Н. М. Диагностика смешанных пятен спермы методом эмиссионного спектрального анализа. — В кн.: Актуальные вопросы судебной медицины и криминалистики. Вып. 49. Л., «Медицина», 1966, с. 139—140.
- Губин Н. М., Марченко Н. П. Дифференциальная диагностика выделений организма человека при помощи спектральных методов исследования. — В кн.: 1-й Всесоюзный съезд судебных медиков. Под ред. В. М. Смольянинова. М., 1976, с. 498—499.
- Гулевич В. С. Анализ мочи. Л., Медгиз, 1945, с. 228.
- Давыдовский И. В. Геронтология. М., «Медицина», 1966.
- Делевский Ю. П. О двойственном характере групповой антигенной метки клеток крови и тканей человека. «Вестн. АН СССР», 1975, № 5, с. 79—87.

- Детинич А. М. О содержании микроэлемента хрома в слюне при наличии несъемных протезов. — «Проблемы ортоп. стомат.», 1966, № 1, с. 39—43.
- Джалалов Д. Д. О некоторых новых возможностях судебно-медицинской экспертизы спермы и пятен ее. Дис. канд. Самарканд, 1967.
- Джалалов Д. Д. Одномоментное обнаружение кислой фосфатазы, холина, спермина и аминокислот спермы в пятне хроматографией на бумаге. — «Суд.-мед. эксперт.», 1974, № 2, с. 38—41.
- Джалалов Д. Д. Одновременное установление наличия спермы и крови в смешанных пятнах методом хроматографии на бумаге. — В кн.: 1-й Всесоюзный съезд судебных медиков. Под ред. В. М. Смольянинова. М., Министерство здравоохранения СССР, 1976, с. 488—489.
- Зайцева Е. И. Значение цитологической картины влагалищного отделяемого при диагностике давности криминального аборта. — «Суд.-мед. эксперт.», 1964, № 4, с. 25—27.
- Кисин М. В. Судебно-медицинское исследование микроколичества некоторых объектов экспертизы вещественных доказательств. Автореф. дис. докт. М., 1974.
- Косяков П. Н. Иммунология изоантигенов и изоантител. М., «Медицина», 1965, 312 с.
- Кольш М. Ш., Ревнитская Л. А. К вопросу о выявлении антигенов системы АВ0 в окрашенных мазках спермы реакциями абсорбции элюции и смешанной агглютинации. — В кн.: Некоторые актуальные вопросы биологии и медицины. Горький, 1974, с. 209—211.
- Концевич И. А., Полищук И. А. Иммунологический метод установления семенной природы пятна. — В кн.: 1-й Всесоюзный съезд судебных медиков. Под ред. В. М. Смольянинова. М., Министерство здравоохранения СССР, 1976, с. 493—494.
- Кубицкий Ю. М., Тахо-Годи Х. М. Применение фазовоконтрастной и люминесцентной микроскопии при исследовании некоторых объектов судебно-медицинской экспертизы. — В кн.: Материалы 3-го Всесоюзного совещания судебно-медицинских экспертов и 3-й Всесоюзной конференции НОСМ. Рига, 1957, с. 189—190.
- Кузнецова Н. И. Исследование ингибирующей активности слюны человека по отношению к фитагглютиниру из семян гороха (*Pisum sativum*). — В кн.: Актуальные вопросы клеточной иммунологии и иммуногенетики. София, «Медицина и физкультура», 1973, с. 63—67.
- Кузнецова П. А. О целесообразности исследования на фруктозу при поиске пятен, подозрительных на сперму, на вещественных доказательствах. — В кн.: Вопросы судебно-медицинской экспертизы и криминалистики. № 5. М., 1975, с. 193—195.
- Масис Т. М. Определение категории выделения системы АВ0 на трупах по желчи и моче. — «Суд.-мед. эксперт.», 1971, № 2, с. 25—29.
- Масис Т. М., Юдина Г. С., Ольховик В. П. О возможности выявления антигенов А и В в слюне и сперме методом абсорбции — элюции. — «Суд.-мед. эксперт.», 1973, № 2, с. 31—33.

- Масис Т. М., Браславская Б. П. Установление категории выделения по желчи лиц, страдающих заболеванием желчного пузыря, печени и желчевыводящих путей. — «Суд.-мед. эксперт.», 1976, № 3, с. 42—45.
- Матвеев В. И., Татаренко В. А. Исследование пятен спермы спектрографическим методом. — «Суд.-мед. эксперт.», 1961, № 4, с. 31—35.
- Могильная Л. К. Люминесцентное исследование пятен спермы. — В кн.: Сб. работ по судебно-медицинской экспертизе. Вып. 2, Благовещенск, 1961, с. 88—90.
- Опарин И. А., Евгеньев Е. М. Выявление сперматозоидов методом непосредственной микроскопии пятен на предмете-носителе. — «Суд.-мед. эксперт.», 1961, № 1, с. 38—40.
- Павлов Ю. П. Установление наличия спермы в пятнах в эксперименте. — Дис. канд. М., 1964.
- Павлова А. З. Судебно-медицинское значение влияния микроорганизмов на сперму. — «Суд.-мед. эксперт.», 1974, № 4, с. 16—17.
- Познанский Я. С. Количественная модификация метода рабочего разведения сывороток. — В кн.: Вопросы судебно-медицинской экспертизы. Вып. 2. М., 1955, с. 327—330.
- Полищук И. А., Стрелец Н. Н. К судебно-медицинской экспертизе пятен спермы. — «Суд.-мед. эксперт.», 1964, № 2, с. 32—33.
- Попиванов Р., Вылчанов В. Х. О динамике экспериментального иммунного спермофагоцитоза. — «Журн. микробиол. и эпидемиол.», 1962, № 2, с. 68—70.
- Попиванов Р. П., Наков Л. С., Подоплелов И. И. М- и N-антигены в сперматозоидах человека. — В кн.: Актуальные вопросы клеточной иммунологии и иммуногенетики. София, «Медицина и физкультура», 1973, с. 69—72.
- Потапов М. И. Лектины как один показатель антигенно-серологического единства и многообразия органической природы. — «Вестн. АМН», 1966, № 5, с. 86—95.
- Потапов М. И. Обнаружение антигена Lewis, свойственного эритроцитам выделителей группы Le (a-b-). — «Пробл. гематол. и перелив. крови», 1970, № 11, с. 45—49.
- Потапов М. И. Современное состояние знаний об изосерологической системе Lewis. — «Пробл. гематол. и перелив. крови», 1973, № 5, с. 10—15.
- Потапов М. И. Исследование человеческой слюны в пятнах козьими сыворотками анти-Le^a и анти-Le^b. — «Суд.-мед. эксперт.», 1973, № 4, с. 29—32.
- Потапов М. И. Фенотипы слюны, спермы, мочи по системе Lewis, возможность использования их в судебной медицине. — «Суд.-мед. эксперт.», 1974, № 1, с. 30—33.
- Прейсман Г. А. К вопросу об установлении агглютиногенов изосерологической системы АВ0 человека. — В кн.: Сборник трудов по судебной медицине и судебной химии. Пермь, 1961, с. 168—171.
- Прозоровский В. И., Туманов А. К., Потапов М. И. Судебно-медицинское значение одной дискуссии. — «Суд.-мед. эксперт.», 1975, № 4, с. 3—8.
- Свирский М. С. Дифференцирование групповых антигенов спермы и крови в смешанных пятнах методом абсорбции — элюции. — «Суд.-мед. эксперт.», 1970, № 1, с. 27—29.

- Свирский М. С. Значение следов пото-жировых выделений человека в экспертизе вещественных доказательств. — «Соц. закон.», 1973, № 12, с. 53—54.
- Свирский М. С. Методы разделения групповых антигенов крови и выделений в смешанном биологическом материале. — В кн.: 1-й Всесоюзный съезд судебных медиков. Под ред. В. М. Смольянинова. М., Министерство здравоохранения СССР, 1976, с. 490—490.
- Семенов Б. М. Электрофоретические особенности спермы периода полового созревания. — В кн.: Актуальные вопросы судебной медицины и криминалистики. Вып. 49. Л., 1966, с. 138—139.
- Семенов Б. М. О возможности применения эмиссионной спектрографии для анализа динамики микроэлементов спермы в период полового созревания. — В кн.: Сборник трудов по травматологии, токсикологии, скоропостижной смерти и деонтологии в экспертной практике. М., «Медицина», 1966, 401—403.
- Семенов Б. М., Шевчук В. А. Исследование спермы методом эмиссионного спектрального анализа. — В кн.: Вопросы судебно-медицинской экспертизы. Вып. 4. М., «Медицина», 1968, с. 231—232.
- Семеновский П. С. К вопросу о микрокристаллическом исследовании семенных пятен в судебно-медицинском отношении. — «Русский врач», 1910, 2, № 38, с. 1343—1345.
- Семеновский П. С. Судебно-медицинское исследование семенных пятен. Юрьев, 1910.
- Серопян А. К. Метод концентрированного извлечения сперматозоидов из пятна. — В кн.: Материалы 3-го Всесоюзного совещания судебных медиков. Рига, 1957, с. 112—114.
- Соленова А. А. Электрофоретическое исследование белков слюны околоушной железы. — «Стоматология», 1966, № 6, с. 16—18.
- Стегнова Т. В. Определение групп системы АВ0 в некоторых микрообъектах биологического происхождения. — В кн.: 1-й Всесоюзный съезд судебных медиков. Под ред. В. М. Смольянинова. М., Министерство здравоохранения СССР, 1976, с. 487—488.
- Сигал Е. Р., Потапов М. И. Собственные группы слюны человека. — «Вопр. антропол.», 1977, № 56.
- Судебная медицина для юристов. Под ред. В. И. Прозоровского. М., «Юридическая литература», 1968, 367 с.
- Твалчрелидзе Ю. Г. Использование фазово-контрастного и фазово-темнопольного методов при судебно-медицинском исследовании спермы. — В кн.: Актуальные вопросы судебной медицины и криминалистики. Вып. 49. Л., 1966.
- Туманов А. К., Барсегянц Л. О. К вопросу о технике выполнения реакции с агглютинидами картофеля для обнаружения спермы на вещественных доказательствах и экспертной оценке полученных результатов. — «Суд.-мед. эксперт.», 1970, № 3, с. 51—53.
- Туманов А. К. Основы судебно-медицинской экспертизы вещественных доказательств. М., «Медицина», 1975, с. 408.
- Туманов А. К., Потапов М. Оценка заключений судебно-медицинских экспертиз. — «Соц. закон.», 1975, № 2, с. 54—55.
- Усачев А. Г. Групповые агглютинины и агглютиногены мочи применительно к судебной медицине. — В кн.: Труды Молотовск. мед. ин-та. Вып. 21, 1942, с. 261—279.

Устинов П. В. Об одной микроскопической пробе на сперму. — В кн.: Сборник работ по судебной медицине и пограничным областям. М., 1955, с. 199—200.

Ухачева О. И. Об определении наличия и групповой принадлежности мочи в судебно-медицинской практике. — В кн.: Сборник трудов 4-й Всесоюзной конф. судебных медиков. Рига, 1962, с. 384—386.

Хижнякова К. И. Цитология секрета молочной железы в норме и при некоторых заболеваниях. М., «Медицина», 1965, 264 с.

Чарный В. И. Значение условий проведения реакции абсорбции для определения групп крови в пятнах. — В кн.: Материалы 3-го Всесоюзн. совещания судебно-медицинских экспертов. Рига, 1957, с. 103—104.

Чарный В. И. О методике титрования иммунных агглютинирующих сывороток. — В кн.: Сборник научных работ кафедры судебной медицины Ленинградск. педагог. мед. ин-та. Л., 1958, с. 160—161.

Чарный В. И. Рациональный план исследования агглютиногенов в пятнах крови. — В кн.: Вопросы судебно-медицинской экспертизы. Вып. 3. М., 1958, с. 388—396.

Чарный В. И. Об ориентирующем значении количественной реакции на кислую фосфатазу при установлении наличия спермы в пятнах. — «Суд.-мед. эксперт.», 1965, № 2, с. 18—22.

Чарный В. И. Сравнительная оценка методов определения видовой принадлежности следов крови и других биологических объектов. — В кн.: 1-й Всесоюзный съезд судебных медиков. Под ред. В. М. Смольянинова. М., Министерство здравоохранения СССР, 1976, с. 473—474.

Чернов В. П. Иммунологический способ установления наличия и видовой принадлежности спермы в пятнах. — «Суд.-мед. эксперт.», 1971, № 4, с. 28—30.

Шалаев Н. Г. О некоторых возможностях использования абсорбционного и эмиссионного спектрального анализа при судебно-медицинской экспертизе по делам о половых преступлениях. — В кн.: Спектральные методы исследования в биологии и медицине. Горький, 1967.

Шиков П. Е., Шалаев Н. Г. Определение хорионического гонадотропного гормона плаценты в различных объектах судебно-медицинской экспертизы отечественной иммунологической системой «Гравидодиагностикум». — В кн.: 1-й Всесоюзный съезд судебных медиков. Под ред. В. М. Смольянинова. М., 1976, с. 641—643.

Шмехта Х., Порстман Т., Пикарт Х. Определение и экспертное значение изоферментов лактатдегидрогеназы в пятнах спермы. — «Суд.-мед. эксперт.», 1976, № 3, с. 39—42.

Шурубур А. А. Исследование спермы с помощью люминесцентной микроскопии. — «Лабор. дело», 1964, № 3, с. 134—138.

Absorption-elution grouping in minute amounts of hair and seminal stain in a stain of rape. — "Acta crim. med. leg. Jap.", 1975, v. 41, p. 1—4; Ref.: "Zentralbl. Rechtsmed.", 1976, Bd 10, S. 215—215. — Aut.: S. Yada, N. Tsugawa, S. Tamada, A. Kido, K. Ohashi.

- Andresen P.* Blood group with characteristic phenotypical aspects.—*"Acta path. microbiol. Scand."*, 1947, v. 24, p. 618.
- Apparent* polymorphism of acid phosphomonoesterase in human plasma by gel electrofocusing and starch gel electrophoresis.—*"Jap. j. leg. med."*, 1976, v. 30, p. 25—35. Aut.: H. Suyama, I. Ohya, T. Imai, I. Nakasono.
- Aren E.* Genetic polymorphism of basic proteins from parotid saliva.—*"Science"*, 1972, v. 176, p. 673—674.
- Arfors K., Bekman L., Lundin L.* Genetic variations of human serum phosphatases.—*"Acta genet."*, 1963, v. 13, p. 89—94.
- Arfors K., Bekman L., Lundin L.* Further studies on the association between human serum phosphatases and blood groups.—*"Acta genet."*, 1963, v. 13, p. 366—368.
- Asano M., Oya M., Hayakawa M.* Identification of menstrual blood stains by the electrophoretic pattern of lactic dehydrogenase isozymes.—*"Jap. j. leg. med."*, 1971, v. 25, p. 148—151.
- Baima-Bollone P.* Demonstration of spermatozoa in stains on wood by a histochemical technique.—*"J. forens. med."*, 1968, v. 15, p. 84.
- Balakrishnan C., Ashton G.* Studies on polymorphisms of human salivary proteins.—*"Excerpta med. Int. Congr. ser."*, 1971, v. 233, p. 20.
- Balakrishnan C., Ashton G.* Polymorphisms of human salivary proteins.—*"Am. j. hum. genet."*, 1974, v. 26, p. 145—153.
- Balding P., Gold E.* A "new" saliva substance, probably inherited and serologically independent of ABH, Lewis and blood group substances.—*"J. med. genet."*, 1973, v. 10, p. 323—327.
- Balthazard V.* Précis de médecine légale. Paris, 1935.
- Baxter S., Rees B.* The identification of saliva in stains in forensic casework.—*"Med., sci. law."*, 1975, v. 15, p. 37—41.
- Beckman L.* Associations between human serum alkaline phosphatases and placental polymorphism. Leucine aminopeptidase.—*"Acta genet."*, 1964, v. 14, p. 256—297.
- Belonoschkin B.* Biologie der menschlichen Spermatozoen im Konzeptionsgeschehen. Leipzig, 1944.
- Berg S.* Diaminoxidase bei Spurenuntersuchungen.—*"Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med."*, 1948, Bd 39, S. 89—107.
- Berg S.* Eine neue Methode zum Nachweis von Spermaflecken.—*"Internat. krim. pol. rev."*, 1955, v. 10, p. 53; Ref.: *"Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med."*, 1955, Bd 44, S. 506—506.
- Berg S.* Methoden zum Nachweis von Genitalspuren.—*"Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med."*, 1954.
- Berg S.* Medicobiological interpretation in cases of sexual delinquency.—*"J. forens. med."*, 1957, v. 4, p. 82.
- Bernardi A., (de)* Nuovo metodo per l'esame di macchie infiltranti profondamente il legno, con particolare riferimento al sangue e allo sperma.—*"Minerva med. leg."*, 1959, v. 79, p. 29.
- Bernardi A., (de)*, Perfezionamento di tecnica per l'esame morfologico di macchie di sperma su stoffa. Allestimento die preparati con nastro adesivo "Scotex".—*"Minerva med. leg."*, 1959, v. 79, p. 36.
- Bernardi A., (de)*, Diagnosi morfologica di macchie di sperma a mezzo della microscopia di fluorescenza.—*"Minerva med. leg."*, 1963, v. 83, p. 28—31.

- Bernheim P. Diagnostic des taches de spermé par le microscope électronique. — "Ann. méd. lég.", 1966, v. 46, p. 130.
- Bird G. Observations on the interactions of the erythrocytes of various species with certain seed agglutinins. — "Brit. j. exper. path.", 1954, v. 35, p. 252.
- Bird G. Phyto-agglutinins. Suppl. 1. — "Acta chir. belg.", 1954, 33.
- Bogusz M., Zabedź J. Wykrywanie plam moczu przy zastosowaniu metody ureazowej. — "Arch. med. sąd. kryminalist.", 1972, v. 22, p. 267—270.
- Bohne C., Dickmann I. Sur Methodik der Identifikation von Spermaflecken in Textilien. — "Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med.", 1956, Bd 44, S. 781.
- Boyer S. Alkaline phosphatase in human sera and placenta. — "Science", 1961, v. 134, p. 1002—1007.
- Brahn B., Schiff F. Das chemische Verhalten der serologischen Gruppenstoffe A und B und ihr Nachweis in Körperflüssigkeiten. — "Klin. Wschr.", 1939, Bd 33, S. 1523.
- Bryc R., Tomaszewska Z. Badania nad późniejszym zachowaniem się poziomu mocznika w krwi. — "Pol. tyg. lek.", 1967, v. 22, p. 1607—1610.
- Buttchereit D., Moeller H.-G. Der Einfluß der Pockenschutzimpfung auf die Ausscheidung der Anti-A und Anti-B-Antikörper im Speichel. — "Folia haemat." (Lpz), 1969, Bd 92, S. 398—401.
- Canale M., Cavera (la) A. L'identificazione di tracce biologiche con il metodo immunoelettroforetico. — "Med. leg." (Genova), 1967, v. 15, p. 103—111; Ref.: "Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med.", 1968, Bd 63, S. 226—226.
- Cameron J., Pereira M. R. v. Payne. — "Med.—leg. j." (Camb.), 1972, v. 40, p. 18—26.
- Chemical analysis of antigenic component specific for human seminal plasma, "γ-seminoprotein" (γ-sm, tentative name). Forensic immunological study of body fluids and secretions. Report. IX. — "Jap. j. leg. med.", 1972, v. 26, p. 81—84. Aut.: M. Hara, T. Inoue, V. Koyanagi, T. Fukuyama.
- Darstellung der sauren Phosphatase in Spermaspuren. — "Arztl. Lab.", 1971, Bd 17, S. 47—54. Aut.: I. Oepen, W. Renninger, R. Hilgermann, C. Hirschhäuser.
- Dérobot L., Caroff I., Breton I. La microscopie en fluorescence pour l'identification médico-légale du spermé. — "Ann. méd. lég.", 1966, v. 46, p. 121—129.
- Desmarez J. Manuel de médecine légale à l'usage des juristes. Bruxelles, Presse universitaire, 1967.
- Edwards G., Ferguson R. A Coombs blood group antigen on human spermatozoa. — "J. reprod. fert.", 1964, v. 7, p. 153—161.
- Eliakis E., Coutselinis A. L'identification du méconium par la recherche de la phosphatase acide et par l'examen spectrophotométrique. — "Méd. lég. dommage corp.", 1971, v. 4, p. 163—168.
- Enos W., Mann G. A laboratory procedure for the identification of semen. A preliminary report. — "Am. j. clin. path.", 1963, v. 39, p. 316—320.
- Erben J. Důkaz fruktózy ve skvrnách od spermatu. — "Čs. pat.", 1971, v. 7, p. 33—35.
- Eriksson R., Baker V. Binding of tetracycline to mammalian spermatozoa. — "Nature", 1967, v. 219, p. 403—410.

- Eunprabhanth V.* Finding of the spermatozoa in the vagina related to elapsed time of coitus.—"Ztschr. Rechtsmed.", 1974, Bd 74, S. 301—304.
- Evrev T.* Identification des taches de sperme humain.—"Méd. lég. dommage corp.", 1971, v. 4, p. 30—34.
- Farriaux I.-P., Muller P.-H., Fontaine G.* Les isoénzymes de la lacticodehydrogénase du sperme humain.—"Acta med. leg. soc.", 1967, v. 20, p. 17—19.
- Fiorentini H., Kerboef F.* Une méthode d'identification des taches anciennes de sperme sur le linge.—"Méd. lég. dommage corp.", 1968, v. 1, p. 191—194.
- Fiori A.* Identificazione della spermina nelle macchie di sperma mediante cromatografia su carta.—"Boll. soc. ital. biol. sperim.", 1955, v. 56, p. 1558.
- Fiori A.* Metodi cromatografici su carta nella diagnosi medicolegale di macchie di sperma.—"Minerva med. leg.", 1957, v. 77, p. 131—143.
- Fiori A., Giusti G., Panari G.* "J. chromatogr.", 1971, v. 55, p. 351.
- Fiori A., Giusti G., Panari G.* "J. chromatogr.", 1971, v. 55, p. 365.
- Fourgade J.* Technique d'identification du sperme par coloration des spermatozoïdes.—"Ann. méd. lég.", 1947, v. 27, p. 72.
- Friedenreich F., Hartmann G.* Über die Verteilung der Gruppenantigene im Organismus der sogenannten "Ausscheider und Nichtausscheider".—"Zeitschr. Immunitätsforsch. exp. Ther.", 1938, Bd 92, S. 141—151.
- Furuya Y.* An immunoelectrophoretical analysis of human saliva.—"Acta crim. med. leg. Jap.", 1968, v. 34, p. 155—157; Ref.: "Dtsch. Ztschr. ges. gerichtl. Med.", 1969, Bd 66, S. 80—81.
- Gatti R.* Technica di decolorazione di stoffe di colore oscuro per la successiva dimostrazione morfologica degli spermatozoi.—"Minerva med. leg.", 1963, v. 83, p. 32—33.
- Gatti R.* Un nuovo metodo di colorazione degli spermatozoi.—"Minerva med. leg.", 1963, v. 83, p. 33—36.
- Giersten J.* Faecal matter in stains. The identification.—"J. forens. med.", 1961, 8, 99—110; Ref.: "Dtsch. Ztschr. ges. gerichtl. Med.", 1962, Bd 52, S. 706—706.
- Glückmann I.* The study of seminal stains by means of ultrasonic apparatus.—"J. forens. med.", 1968, v. 15, p. 144—147.
- Godzinska H., Schlesinger D.* Wplyn surowic ludzkich na fitagglutyniny.—"Arch. imm. ter. dosw.", 1956, v. 4, p. 71.
- Grodecka U., Kornobis J.* Swoistwa surowica dla nasienia ludzkiego.—"Arch. med. sad.", 1973, v. 23, p. 125—128.
- Grubb R.* Correlation between Lewis blood group and secretor character in man.—"Nature", 1948, v. 162, p. 933.
- Grubb R.* Dextran as medium for the demonstration of incomplete anti-Rh agglutinins.—"J. clin. path.", 1949, v. 2, p. 223—224.
- Gunson H., Latham V.* An agglutinin in human serum reacting with cells from Le (a—b—) nonsecretor individual.—"Vox sang.", 1972, v. 22, p. 344—347.
- Hallcock R.* Spermine and choline identification by thinlayer chromatography.—"J. forens. sci.", 1974, v. 19, p. 172—174. Ref.: "Zentralbl. Rechtsmed.", 1976, Bd 10, 293—293.
- Hamilton P.* Amino acids on hands.—"Nature", 1965, v. 215, p. 284—285.

- Hara M. Forensic immunological studies of human body. — "Jap. j. leg. med.", 1974, v. 28, p. 164—176.
- Hauck G., Leithoff H. Die Phosphatasebestimmung als gerichtsmedizinischer Spermanachweis. — "Dtsch. Ztschr. ges. gerichtl. Med.", 1959, Bd 49, S. 5—20.
- Heuschkel H.-J., Kerde Ch. Untersuchungen zur Ausscheidung von Gruppensubstanz des A-B-0-Systems in der Schweißflüssigkeit. — "Kriminal. forens. Wiss.", 1974, Bd 14, S. 95—98; Ref.: "Zentralbl. Rechtsmed.", 1975, Bd 9, S. 230—230.
- Hirschfeld I. Immuno-electrophoretic demonstration of qualitative differences in human sera and their relation to the haptoglobins. — "Acta path. microbiol. Scand.", 1959, v. 47, p. 160.
- Hirschfeld I. Shape of the precipitate in immunoelectrophoresis. — "Nature", 1960, v. 185, p. 164.
- Hodson J. Forensic odontology its role in the problems of the police and forensic pathologist. — "Med. sci. law" (Camb.), 1970, v. 10, p. 247—251.
- Höhn P., Walther G., Leithoff H. Diskelektrophoretische Differenzierung saurer Phosphatasen verschiedener Herkunft. — "Ztschr. Rechtsmed.", 1971, Bd 68, S. 129—137.
- Hopkinson D., Spencer N., Harris H. Red cell acid phosphatase variants a new human polymorphism. — "Nature" (London), 1963, v. 199, p. 969—971.
- Hopkinson D., Spencer N., Harris H. Genetic studies on human red cell acid phosphatases. — "Am. j. hum. genet.", 1964, v. 16, p. 141—157.
- Immunoelectrophoretic studies of the protein components in human seminal plasma. — "Jap. j. leg. med.", 1969, v. 23, p. 117—122. Aut.: M. Hara, T. Inoue, I. Koyanagi, H. Jamasaki, T. Fukuyama, H. Yki.
- Isolation of antigenic component specific for human seminal plasma "γ-seminoprotein (γ-Sm), tentative name" by electrofocusing. Forensic immunological study of body fluids and secretions. Report VIII. — "Jap. j. leg. med.", 1972, v. 26, p. 78—80. Aut.: Y. Koyanagi, M. Hara, T. Inoue, K. Chara.
- Kimura Y. On the identification of human semen by acid phosphatase test. — "Jap. j. leg. med.", 1959, v. 13, p. 542—551; Ref.: "Dtsch. Ztschr. ges. gerichtl. Med.", 1960, Bd 50, S. 198—198.
- Kivela E. On finding spermatozoa in suspected seminal stains. — "J. forens. sci.", 1964, v. 9, p. 138—139.
- Klose I. Störungen der Blutartbestimmungen. — "Dtsch. Ztschr. ges. gerichtl. Med.", 1962, Bd 52, S. 267—272.
- Knight B. Specific staining for nucleoprotein in the examination of seminal stains. — "J. forens. sci.", 1963, v. 3, p. 107.
- Koyanagi Y., Hara M., Inoue T. Study on the molecular weight of the antigenic component specific for human seminal plasma "γ-seminoprotein". Forensic immunological studies of body fluids and secretions. Report XIV. — "Jap. j. leg. med.", 1975, v. 29, p. 18—21.
- Laboratory procedure for the identification of semen. A preliminary report. — "Am. j. clin. path.", 1963, v. 39, p. 316. Aut.: G. Embden, G. Tachau, W. Enos, G. Mann.
- Lawes W. Hyaluronidase und Zeugungsfähigkeit. — "Dtsch. Ztschr. ges. gerichtl. Med.", 1948, Bd 39, S. 207—212.

- Legal medicine, pathology and toxicology.* New York, Appleton—Century—Crofts, 1954, 1349 c. Aut.: T. Gonzales, M. Vance, M. Helpern, C. Umberger.
- La thiocyanurie du fumeur.* — "Méd. lég. dommage corp.", 1970, v. 3, p. 266—270. Aut.: M. Yacoub, J. Faure, J.-M. Million, G. Cau.
- Leithoff H., Leithoff I.* Immunoelktrophoretische Untersuchungen des menschlichen Spermas. — "Acta med. leg. soc.", 1956, v. 18, p. 55.
- Leithoff H., Leithoff I.* Die Verteilung der sauren Phosphatase und der Spermien in Spermaflecken. — "Acta med. leg. soc.", 1965, v. 18, p. 47.
- Lindner D.* Vergleichende Untersuchungen der Samenflüssigkeit des Menschen und der wichtigsten Haussaugetiere. — Inaug. Diss. München, 1967.
- Lundquist P.* Medicolegal identification of seminal stains using the acid phosphatase test. — "Arch. path.", 1950, v. 50, p. 4.
- Marcusson-Begun H.* Untersuchungen über das Hämagglutinin der Kartoffelknolle. — "Ztschr. Immunitätsforsch., exper. Ther.", 1926, Bd 45, S. 49.
- Marzinkowski T., Przybylski Z.* Seminal stains. A simple device for their determination. — "J. forens. med.", 1966, v. 13, p. 130—133.
- Matsuzawa S., Yosikawa N., Hata Y.* Secretion of anti-A and anti-B agglutinins into human saliva. — "Jap. j. leg. med.", 1972, v. 26, p. 19—23.
- Merkel H.* Über den Glykogengehalt des Scheidenepithels; seine diagnostische Bedeutung und deren kritische Bewertung. — "Dtsch. Ztschr. ges. gerichtl. Med." 1924, Bd 4, S. 1—8.
- Meyer T., Lamberts B.* The use of Wood Fast Blue BL for the electrophoresis of human parotid saliva proteins in acrylamide gel. — "Archs oral Biol.", 1968, v. 13, p. 839—840.
- Mueller B.* Gerichtliche Medizin. Berlin, Springer, 1975.
- Mueller B.* Über den Nachweis eingetrockneten Speichels auf Tüchern. — "Dtsch. Ztschr. ges. gerichtl. Med.", 1928, Bd 11, S. 210—224.
- Muller M., Lenoir L., Muller P.-H.* Identification des caractères biologiques des taches de sang sur les vêtements soumis aux techniques de nettoyage à sec. — "Ann. méd. lég.", 1966, v. 46, p. 188—190.
- Muller M., Villot M., Débargé A.* Utilisation du contraste de phase dans la recherche des spermatozoïdes. — "Ann. méd. lég.", 1966, v. 46, p. 186.
- On the creatine phosphokinase test for identification of human semen.* — "Jap. j. leg. med.", 1968, v. 22, p. 35—42. Aut.: H. Suyama, T. Matsumoto, N. Abe, I. Hayashi.
- Ottensooser F., Pagenotto J., Nussenzweig I.* — Increased bloodgroup activity in urine of patients with renal disease. — "Transfusion", 1971, v. 11, p. 28—32; Ref.: "Zentralbl. Rechtsmed.", 1972, Bd 4, S. 377—377.
- Palatnik M., Carnese F.* Substancias gruppoespecificas ABH en manchas experimentales. II. Sensibilidad del metodo de "mixed agglutination". — "Sangre" (Barcelona), 1970, v. 15, p. 453—460; Ref.: "Zentralbl. Rechtsmed.", 1972, Bd 4, S. 153—153.

- Pereira M.* The biological aspects of forensic science, the examination of blood and body fluids. — "Ann. falcific. exp. chem.", 1973, v. 66, p. 250—256; Ref.: "Zentralbl. Rechtsmed.", 1975, Bd 8, S. 400—400.
- Ponsold A.* Lehrbuch der gerichtlichen Medizin. Berlin, 1961.
- Prokop O., Göhler W.* Forensische Medizin. Berlin, "Volk u. Gesundheit.", 1975, 791 c.
- Radam G.* Zum Nachweis von Speichelspuren. — "Beitr. gerichtl. Med.", 1965, Bd 23, S. 226—235; Ref.: "Dtsch. Ztschr. ges. gerichtl. Med.", 1966, Bd 58, S. 234—234.
- Раданов О., Пейчев И.* Към въпроса за установяването на петна от човешка сперма по метода на Л. О. Барсегянц. — «Съвр. мед.» (София), 1970, т. 21, с. 33—35.
- Raszeja S.* Essai de l'application des extraits de plantes pour la détermination rapide de l'origine des taches de lait. — "Ann. méd. lég.", 1966, v. 46, p. 165—167.
- Rees B., Rotwell T.* The identification of phosphoglucumutase isoenzymes in semen stains and its use in forensic casework investigations. — "Med., sci. and. law" (Camb.), 1975, v. 15, p. 284—293.
- Reimann W., Popwasilev L.* Untersuchungen über die agglutinatorischen Prinzipien, deren Gruppen- und Artspezifität an bisher nicht untersuchtem pflanzlichem Material. — Habilitäts-Schrift, Berlin, 1961.
- Reimann W., Popwasilev L.* Anti-A aus Sophora japonica—Hülsen. — "Ztschr. ges. Hyg.", 1962, Bd 8, S. 140.
- Reimann W., Popwasilev L.* Fleckentest zur Unterscheidung von Tier- und Menschenblut mittels Extrakten aus Sophora japonica. — "Ztschr. ges. Hyg.", 1962, Bd 8.
- Roy M., Chatterjea J.* Observations on the presence of Rh substances in body fluids. — "J. Indian med. ass.", 1961, v. 37, p. 53—55; Ref.: "Dtsch. Ztschr. ges. gerichtl. Med.", 1962, Bd 52, S. 689—690.
- Rupp I.* Sperm survival and prostatic acid phosphatase activity in victims of sexual assaults. — "J. forens. med.", 1969, v. 14, p. 177—183.
- Ruskov S.* An electrophoretic study of spermic plasma upon agar. — "Proc. postgr. med. inst. Sofia", 1964, v. 11, p. 69.
- Schlesinger D.* The frequency of Gc groups in the Polish population. — "Arch. immunol. ther. exp.", 1963, v. 11, p. 615.
- Schlesinger D., Vogt A., Prokop O.* Die Methodik der Gc-Bestimmung. — "Dtsch. Gesundh. wes.", 1963, Bd 8, S. 332.
- Schmitz von Hülst M.* Untersuchungen über den Nachweis von Urinspuren mittels Urease. Diss. Bonn, 1956; Ref.: "Dtsch. Ztschr. ges. gerichtl. Med.", 1957, Bd 46, S. 342—342.
- Schoysmann R., van de Wall M.* Mise en évidence de sperme sur des fibres textiles dans différentes conditions tinctorielles. La recherche des spermatozoïdes dans les voies génitales de la femme. — "Acta med. leg. soc.", 1966, v. 19, p. 121.
- Schulz E.* Absättigungsversuch und Mischagglutination. Vergleichende Untersuchungen zum Nachweis der Ausscheidereigenschaft. — "Ztschr. Rechtsmed.", 1974, Bd 74, S. 87—98.
- Seta S., Suzuki E., Kitahama M.* Scanning electron microscopy and electron probe microanalysis of seminal stains. — "Jap. j. leg. med.", 1972, v. 26, p. 397—402.

- Siracusa V.* La sostanza isoagglutinabile del sangue e la sua dimostrazione per la diagnosi individuale delle macchie. — "Arch. antropol. crim., psichiat. med. leg.", 1923, v. 43, p. 362—364.
- Some physicochemical characteristics of "γ-seminoprotein", an antigenic component specific for human seminal plasma. — "Jap. j. leg. med.", 1971, v. 25, p. 322—324. Aut.: M. Hara, V. Koyanagi, T. Inoue, T. Fukuyama.
- Suyama H., Sawada H.* Die Bestimmung der menschlichen Samenflüssigkeit durch ein anti-saures Prostata-Phosphatase Serum. — "Dtsch. Ztschr. ges. gerichtl. Med.", 1963, Bd 53, S. 175.
- Swinson R., Madden J.* ABO blood groups and ABH substance secretion in alcoholics. — "Quart. j. stud. alcohol", 1973, v. 34, p. 64—70; Ref.: "Zentralbl. Rechtsmed.", 1974, Bd 8, 222.
- Tesař J.* On the problem of demonstration of salivary stains. — "Soudní lék.", 1970, v. 15, p. 37—42.
- Tesař J., Klir P., Doskocilová L.* Důkaz skupinové přaluskosti v usím mazu dvouokruhovým systémem. — "Cs. pat.", 1973, v. 9, p. 43—44.
- Thin-layer chromatography of the antigenic component specific to human seminal plasma "γ-seminoprotein". Forensic immunological study of body fluids and secretions. Report X.* — "Jap. j. leg. med.", 1972, v. 26, p. 85—88. Aut.: M. Hara, T. Inoue, V. Koyanagi, K. Hoga.
- Thoma K.* Neues Verfahren: Die Unterscheidung von Menschen- und Säugetierurin. — "Arch. Krim.", 1956, Bd 118, S. 131.
- Thoma K.* Eine weitere Methode zum Nachweis von Speichelspuren. — "Arch. Krim.", 1961, Bd 128, S. 42—43.
- Thoma K.* Der Speichelnachweis mit Triphenyl — tetrazolium Chlorid, einschliesslich der indirekten Blutgruppenbestimmung aus Speichelspuren. — "Acta med. leg. soc.", 1964, Bd 17, S. 39.
- The detection of prostatic acid phosphatase by antibody reactions in gel diffusion.* — "J. immunol.", 1964, v. 93, 474—480. Aut.: S. Schulman, L. Mamrod, M. Gonder, W. Soanes.
- Thoma K., Koll M., Fisher H.* Der papierchromatographische Nachweis von Spermin aus menschlichen Samenspuren. — "Arch. Krim.", 1959, Bd 124, S. 96—106.
- Tran van Ky P., Muller P.* Étude de la structure antigénique du sperma humain et caractérisation de ses activités enzymatiques après immuno-electrophorèse en agarose. Applications médico-légales éventuelles. — "Méd. lég. dommage corp.", 1968, v. 1, p. 269—281.
- Turowska B., Kolodziej J., Krupiński L.* Specific serum for human semen and acid phosphatase. — "Arch. med. sad.", 1975, v. 25, p. 15—19; Ref.: "Zentralbl. Rechtsmed.", 1976, Bd 10, S. 293—294.
- Tyagi S., Hameed S.* Secretion of blood group specific substances in body fluids. — "Indian j. med. res.", 1970, v. 58, p. 1226—1233; Ref.: "Zentralbl. Rechtsmed.", 1972, Bd 4, S. 154—154.
- Ueda M., Yamamoto T.* A new test for detection of semen using a zinc reagent. — "J. med. sci.", 1960, v. 6, p. 121; Ref.: "Dtsch. Ztschr. ges. gerichtl. Med.", 1962, Bd 52, S. 351—351.
- Vacíková A., Kout M.* Užití izoamyláz v krevních zkouškách při sporech o otcovství. — "Cs. pat.", 1973, v. 18, p. 38—42.

- Villanueva F., Castilla I., Gisbert-Calabuig I.-A. Methode mixte bidimensionnelle électrophorèse—chromatographie pour l'identification médico-légale du sperme. — "Ann. méd. lég.", 1967, v. 47, p. 878—884; Ref.: "Dtsch. Ztschr. ges. gerichtl. Med.", 1969, Bd 66, S. 79—80.
- Walther G. Die Beeinflussung des Spermanachweises durch einige moderne Waschmittel. — "Arch. Krim.", 1967, Bd 140, S. 170; Ref.: "Dtsch. Ztschr. ges. gerichtl. Med.", 1969, Bd 66, S. 227.
- Walther G. Untersuchungen zum Nachweis von Creatinphosphokinase im menschlichen Sperma. — "Beitr. gerichtl. Med.", 1968, Bd 24, S. 80; Ref.: "Dtsch. Ztschr. ges. gerichtl. Med.", 1969, Bd 66, S. 80—80.
- Walther G. Acid phosphatase. Its significance in the determination of human seminal traces. — "J. forens. med.", 1971, v. 18, p. 15—17.
- Weinke H., Martin F., Gibb B. Zur Identifizierung von Harn und Harnflecken mittels Dünnschichtchromatographie. — "Dtsch. Ztschr. ges. gerichtl. Med.", 1966, Bd 58, S. 222—227.
- Whitehead P., Kipps U. A test paper for detecting saliva stains. — "J. forens. sci. soc.", 1975, v. 15, p. 39—42; Ref.: "Zentralbl. Rechtsmed.", Bd 10, S. 214—214.
- Yada S., Ohya I., Sawada H. An attempt to determine the blood groups of saliva stains by means of precipitation electrophoresis. — "Acta crim. med. leg.", 1970, v. 36, p. 53—56; Ref.: "Zentralbl. Rechtsmed.", 1971, Bd 3, S. 87—87.
- Yada S., Okane M., Sano Y. Blood grouping of human cerumens by means of elution technique. — "Jap. j. leg. med.", 1966, v. 20, p. 220—222.
- Yano M. Identification of semen by thinlayer chromatography in legal medicine. — "Jap. j. leg. med.", 1970, v. 24, p. 331—339.
- Yanssen W., Kiessling W. Zur forensischen Bedeutung der Bewegungsdauer von Spermien auf Wäschestücken. — "Dtsch. Ztschr. ges. gerichtl. Med.", 1967, Bd 60, S. 42—47.
- Yeh C. Agglutination of saliva sensitized particles. — "Jap. j. leg. med.", 1976, v. 30, p. 55—66.
- Zur Frage fibrinolytisch aktiver Substanzen im menschlichen Speichel. — "Wien. klin. Wschr.", 1973, Bd 85, S. 607—610. Aut.: G. Schernthaner, B. Binder, W. Doleschel, W. Auerswald.

СОДЕРЖАНИЕ

Введение	3
I. Обнаружение спермы	6
Морфологический способ	10
Макролюминесцентный способ	18
Микрокристаллические и микрохимиче- ские способы	19
Серологический способ	22
Хроматографические способы	24
Электрофоретический способ	26
Ферментные способы	28
Фитагглютинационный способ	36
II. Обнаружение слюны	50
Обнаружение слюны на посуде, исполь- зованной для питья	61
Обнаружение слюны на остатках пищи	62
Определение наличия слюны на папиро- сах и «самокрутках»	62
III. Исследование мочи	65
Установление наличия мочи в сыпучих и жидких объектах	71
Определение беременности по следам мочи	72
IV. Обнаружение пота и других жидкостей ор- ганизма	78
Обнаружение пота	78
Обнаружение секрета влагалища	86
Обнаружение молока и молозива	89
Обнаружение гноя	91
Обнаружение выделений из носа	91
Обнаружение прочих выделений	92
V. Дифференцирование выделений человече- ского организма путем эмиссионного спект- рального анализа	93
VI. Определение видовой принадлежности вы- делений	97
Сперма	98
Слюна	98
Пот	98
Моча	100
Кал	100
VII. Определение категории выделения и групповой принадлежности выделений	102
Связь выделения с группами кро- ви системы Льюиса	105
Ход исследования	107
Особенности исследования некоторых выделений	123
Л и т е р а т у р а	129

50 к.